



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

# **AVANÇOS NOS ESTUDOS DE INTERPRETAÇÃO DE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS NOS LATOSSOLOS ARGILOSOS DE CERRADO**

**LEANDRO MORAES DE SOUZA**

**TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA**

**BRASÍLIA/DF**

**Maior/2016**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**Avanços nos estudos de interpretação de indicadores  
microbiológicos nos Latossolos argilosos de Cerrado**

**LEANDRO MORAES DE SOUZA**

**ORIENTADORA: MARILUSA PINTO COELHO LACERDA**  
**CO-ORIENTADORA: IEDA DE CARVALHO MENDES**

**TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA**

**PUBLICAÇÃO: 042D/2016**

**BRASÍLIA/DF**  
**Maior/2016**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

## **AVANÇOS NOS ESTUDOS DE INTERPRETAÇÃO DE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS NOS LATOSSOLOS ARGILOSOS DE CERRADO**

**LEANDRO MORAES DE SOUZA**

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM AGRONOMIA COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À  
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM AGRONOMIA.**

**APROVADA POR:**

---

**MARILUSA PINTO COELHO LACERDA (ORIENTADORA);** Presidente da banca; PhD;  
Professora Associada III (UnB); CPF: 434.760.586-20; E-mail: [marilusa@unb.br](mailto:marilusa@unb.br)

---

**CÍCERO CÉLIO DE FIGUEIREDO (EXAMINADOR INTERNO);** PhD; Professor Adjunto IV  
(UnB); CPF: 029.754.447-02; Email: [cicerocf@unb.br](mailto:cicerocf@unb.br)

---

**ALESSANDRA MONTEIRO DE PAULA (EXAMINADORA INTERNA);** PhD; Professora  
Adjunta III (UnB); CPF: 820.032.201-78; Email: [alessandramp@unb.br](mailto:alessandramp@unb.br)

---

**GUILHERME MONTANDON CHAER (EXAMINADOR EXTERNO);** PhD; Pesquisador;  
Embrapa Agrobiologia; CPF: 035.580.036-59; E-mail: [guilherme.chaer@embrapa.br](mailto:guilherme.chaer@embrapa.br)

---

**ROBÉLIO LEANDRO MARCHÃO (EXAMINADOR EXTERNO),** PhD; Pesquisador;  
Embrapa Cerrados; CPF: 861.160.701-59; E-mail: [robelio.marchao@embrapa.br](mailto:robelio.marchao@embrapa.br)

**BRASÍLIA/DF, 31 de maio de 2016.**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Souza, Leandro Moraes

Avanços nos estudos de interpretação de indicadores microbiológicos nos Latossolos argilosos de Cerrado / Leandro Moraes de Souza; Orientação de Marilusa Pinto Coelho Lacerda; Co-orientação de Ieda de Carvalho Mendes - Brasília, 2016.

177p. : il.

Tese de Doutorado (D) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

1. Carbono da biomassa microbiana. 2. Nitrogênio da biomassa microbiana. 3.  $\beta$ -glicosidase. 4. Arilsulfatase. 5. Fosfatase ácida. 6. Desidrogenase. 7. Fosfatase alcalina. 8. Urease. 9. FDA 10. Bioindicadores. 11. Secagem do solo.  
I. Lacerda, M.P.C. II. PhD.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SOUZA, L.M. **Avanços nos estudos de interpretação de indicadores microbiológicos nos Latossolos argilosos de Cerrado**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 165 p. Tese de Doutorado.

## CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Leandro Moraes de Souza

TÍTULO DA TESE: Avanços nos estudos de interpretação de indicadores microbiológicos nos Latossolos argilosos de Cerrado.

GRAU: Doutor

ANO: 2016

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta tese de doutorado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

-----  
Nome: Leandro Moraes de Souza

CPF: 726.766.711-20

Endereço. SHCES. Quadra 407, bloco "G", apartamento 104, Cruzeiro Novo, Brasília - DF.

Tel. 8114-7548

Email: [leandroms83@yahoo.com.br](mailto:leandroms83@yahoo.com.br)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por me conceder tudo o que preciso e muito mais. Por estar sempre presente em nossas vidas, nos norteando, protegendo e abençoando em todos os momentos.

Aos meus pais por todo amor, apoio, auxílio, paciência e dedicação. Agradeço, ainda, pela base familiar de compaixão, harmonia, perseverança e honestidade.

Ao meu irmão, Lui, por ser o principal responsável pelo meu ingresso na Universidade. Nada do que conquistei seria possível sem seus conselhos e incentivos.

À Fernanda Rodrigues pelo apoio incondicional, carinho, amor e dedicação, como namorada, amiga e companheira, por todos os momentos de paciência, zelo e alegria.

Ao Comitê Orientador deste trabalho pela oportunidade oferecida, pela confiança depositada e por todo incentivo durante o trabalho.

À Ieda de Carvalho Mendes pela condução desta tese. Obrigado por todas as orientações, por estar sempre presente e por toda a ajuda, sem a qual este trabalho não teria sido finalizado. Agradeço, também, pelo exemplo de dedicação e perseverança.

Ao Djalma Martinhão pelas orientações, pelos conselhos e por toda dedicação para conclusão deste trabalho.

Ao Fábio Bueno, em primeiro lugar, pela amizade e pelas horas de “terapia”. Agradeço, também, pela orientação e paciência e pelos ensinamentos e conselhos.

À Marilusa Lacerda pelas orientações, pelo carinho e por todo conhecimento transmitido desde a graduação.

Ao colega André pela parceria e auxílio em todas as etapas deste trabalho. Além disso, agradeço pela amizade e companheirismo.

À Eudaci por todo apoio laboratorial, obrigado por sua dedicação e afinho em todas as análises.

Ao Juaci Malaquias por todas as lições em estatística e pelo acompanhamento de todas as etapas da tese.

A Raquel, Lucas, Lídia, Ramon, Yara, Tiago, Clodoaldo, Osmar, Eduardo e todos os amigos do Laboratório de Microbiologia pela amizade e por todo auxílio, desde a coleta até as análises em laboratório.

À Milena pelas palavras de incentivo, pelo carinho, pela paciência e pela presença na defesa.

Ao professor Wenceslau por sua presença e pelas contribuições.

À Professora Lucrécia pelos ensinamentos em microbiologia e pela participação.

Aos participantes da banca, Dr. Cícero C. de Figueiredo, Dr. Guilherme Chaer, Dra. Alessandra Monteiro e Dr. Robélío Marchão, pela disponibilidade e pelas contribuições.

À Embrapa Cerrados e UnB pela oportunidade e apoio.

A todos os amigos pelos incentivos e pelas contribuições com este trabalho.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO GERAL .....</b>	<b>xix</b>
<b>THESIS ABSTRACT .....</b>	<b>xxi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>3</b>
2.1. OBJETIVO GERAL .....	3
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	4
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>5</b>
3.1. SOLO, AGRICULTURA E O CERRADO.....	5
3.2. QUALIDADE DE SOLOS, SEUS ÍNDICES E INDICADORES.....	6
3.3. COMO INTERPRETAR OS ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS? .....	10
3.4. VARIAÇÕES SAZONAIS, PRÉ-TRATAMENTOS E O DESAFIO DA UNIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	12
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO 1:.....</b>	<b>25</b>
<b>EFEITOS DA ÉPOCA DE AMOSTRAGEM E DA SECAGEM DO SOLO AO AR NA ATIVIDADE DAS ENZIMAS ARILSULFATASE, <math>\beta</math>-GLICOSIDASE E FOSFATASE ÁCIDA.....</b>	<b>25</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>26</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>27</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>28</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
2.1. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E QUÍMICAS .....	35
2.2. ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	35
2.3. NOVAS TABELAS DE INTERPRETAÇÃO USANDO O CONCEITO FERTBIO.....	37

<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>38</b>
3.1. FLORAÇÃO/SOLO ÚMIDO X PÓS-COLHEITA/SOLO SECO (FERTBIO)	38
3.2. PÓS-COLHEITA/SOLO ÚMIDO X PÓS-COLHEITA/SOLO SECO (FERTBIO) .....	51
3.3. VARIAÇÃO INTERANUAL DOS ATRIBUTOS.....	56
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>59</b>
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>64</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>65</b>
 <b>CAPÍTULO 2:.....</b>	 <b>70</b>
<b>TABELAS DE INTERPRETAÇÃO PARA O CARBONO E NITROGÊNIO DA BIOMASSA MICROBIANA E PARA AS ENZIMAS DESIDROGENASE, FOSFATASE ALCALINA, UREASE E FDA.....</b>	<b>70</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>71</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>73</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>75</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>79</b>
2.1. CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS EXPERIMENTAIS.....	79
2.3.1. Carbono e Nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM).....	83
2.3.2. Atividade da enzima urease .....	84
2.3.3. Atividade da enzima desidrogenase .....	85
2.3.4. Atividade da enzima fosfatase alcalina.....	86
2.3.5. Atividade enzimática total (FDA).....	86
2.3.6. Carbono orgânico do solo (COS).....	87
2.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	88
2.5. INTERPRETAÇÃO DOS ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS .....	89
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>90</b>



3.1. CBM, NBM, DESIDROGENASE, FOSFATASE ALCALINA, UREASE E FDA EM SOLOS CULTIVADOS E ÁREAS DE CERRADO .....	90
3.2. TABELAS DE INTERPRETAÇÃO: FLORAÇÃO/SOLO ÚMIDO E PÓS-COLHEITA/SOLO SECO .....	97
3.3. ÉPOCA DE COLETA E PRÉ-TRATAMENTO DO SOLO .....	109
3.4. VARIAÇÃO INTERANUAL DOS ATRIBUTOS.....	114
<b>4. CONCLUSÕES .....</b>	<b>119</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>120</b>
 <b>CAPÍTULO 3:.....</b>	<b>136</b>
<b>CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA EM LATOSSOLOS DETERMINADO POR OXIDAÇÃO ÚMIDA E COMBUSTÃO A TEMPERATURA ELEVADA.....</b>	<b>136</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>137</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>138</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>139</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>141</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>146</b>
<b>4. CONCLUSÕES .....</b>	<b>156</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>156</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>162</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>165</b>
 <b>ANEXOS .....</b>	<b>166</b>
ANEXO A: DETALHAMENTO DOS EXPERIMENTOS ANALISADOS .....	167
ANEXO B: UMIDADE DAS AMOSTRAS .....	170
ANEXO C: DADOS METEOROLÓGICOS .....	176

## ÍNDICE DE FIGURAS:

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>Figura 1</b> - Modelo conceitual de conversão de um conjunto de indicadores em um índice de qualidade (Karlen et al., 2003).....	8
 <b>CAPÍTULO 1:.....</b>	<b>25</b>
<b>Figura 1</b> – Coleta de solo efetuada com auxílio de trado-holandês (esquerda) e parcela do experimento após coleta das amostras (direita).....	31
 <b>Figura 2</b> - Imagem dos três experimentos, obtida com auxílio do software Google Earth, na época de floração (A) e após a colheita do milho (B). A área tracejada em azul corresponde ao experimento I, em amarelo, ao experimento II e, em vermelho, ao experimento III.....	34
 <b>Figura 3</b> - Atividade enzimática em amostras coletadas na floração/solo úmido, pós-colheita/solo úmido e pós-colheita/solo seco. Linhas sólidas, pontilhadas e as barras representam as medianas, médias, e os 10° e 90° percentis, respectivamente. Caixas representam os 25° e 75° percentis. Os pontos representam as médias dos tratamentos que ficaram abaixo do 10° percentil e acima do 90° percentil.....	42
 <b>Figura 4</b> - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase (A), $\beta$ -glucosidase (B) e fosfatase ácida (C) determinadas nas fases de floração/solo úmido e na pós-colheita/solo seco, nos anos de 2013 e 2015. A figura D mostra as relações entre os teores de COS determinados nas duas épocas. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. ***Significativo a $P < 0,001$ . Valores de atividade de $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em $\mu\text{g}$ de p-nitrofenol $\text{g}^{-1}$ solo $\text{h}^{-1}$ . Carbono orgânico do solo (COS) expresso em $\text{g kg}^{-1}$ .....	43

**Figura 5** - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida com o COS (A, B e C) e com o RRA (D, E e F), determinadas na fase pós-colheita/solo seco, nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ . .....45

**Figura 6** - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida com o COS (A, B e C) e com o RRA (C, D e E), determinadas na fase floração/solo úmido, nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ . .....46

**Figura 7** - Relações entre o rendimento relativo acumulado de grãos (RRA) e carbono orgânico do solo (COS), determinadas com base nas amostras FERTBIO (A) e coletadas na fase de floração/solo úmido (B), nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ .....50

**Figura 8** - Relações entre as atividades das enzimas arilsulfatase,  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida, determinadas nas fases de pós-colheita/solo úmido e na pós-colheita/solo seco, nos anos 2013 e 2015. Os pontos representam as médias dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Valores de atividade de  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase expressos em  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  solo  $\text{h}^{-1}$ . .....54

<b>Figura 9</b> - Atividade enzimática e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem floração/solo úmido. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão. ....	56
<b>Figura 10</b> - Atividade enzimática e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem pós-colheita/solo seco. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão. ....	57
<b>CAPÍTULO 2:</b> .....	<b>70</b>
<b>Figura 1</b> - Foto de uma das áreas de Cerrado onde foram feitas as coletas de solo sob vegetação nativa (esquerda) e furo deixado onde a coleta foi efetuada com trado-holandês com 5 cm de diâmetro (direita). ....	81
<b>Figura 2</b> – Fotos realizadas durante as coletas de solo na floração (esquerda) e pós-colheita do milho (direita). ....	82
<b>Figura 3</b> - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o RRA determinadas na fase floração/solo úmido. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. ***Significativo a $P < 0,001$ . Ns = não significativo. ....	98
<b>Figura 4</b> - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o COS determinadas na fase floração/solo úmido. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. ***Significativo a $P < 0,001$ . Ns = não significativo. ....	99
<b>Figura 5</b> - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o RRA determinadas na fase pós-colheita/solo seco. Os	

pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Ns = não significativo..... 101

**Figura 6** - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA com o COS determinadas na fase pós-colheita/solo seco. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Ns = não significativo..... 102

**Figura 7** - Relações entre o rendimento relativo acumulado de grãos (RRA) e o carbono orgânico do solo (COS), determinadas com base nas amostragens pós-colheita/solo seco (A) e floração/solo úmido (B) nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ ..... 103

**Figura 8** - CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA em amostras coletadas na floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco. Linhas sólidas, pontilhadas e as barras representam as medianas, médias, e os 10° e 90° percentis, respectivamente. Caixas representam os 25° e 75° percentis. Os valores de cada bioindicador são expressos em: NBM – mg N kg<sup>-1</sup> solo; Urease - µg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; Desidrogenase – mg TPF kg<sup>-1</sup> solo 24 h<sup>-1</sup>; Fosfatase Alcalina - µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; FDA – mg fluoresceína kg<sup>-1</sup> solo 3 h<sup>-1</sup>. Os pontos representam as médias dos tratamentos que ficaram abaixo do 10° percentil e acima do 90° percentil..... 110

**Figura 9** - Relações entre o CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA determinadas nas fases de floração/solo úmido e na pós-colheita/solo seco, nos anos e 2013 e 2015. Os pontos representam a média dos 24 tratamentos em 2013 e 2015. \*\*\*Significativo a  $P < 0,001$ . Os valores de cada bioindicador são expressos em: NBM – mg N kg<sup>-1</sup> solo; Urease - µg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g<sup>-1</sup> solo

h<sup>-1</sup>; Desidrogenase – mg TPF kg<sup>-1</sup> solo 24 h<sup>-1</sup>; Fosfatase Alcalina - µg de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>; FDA – mg fluoresceína kg<sup>-1</sup> solo 3 h<sup>-1</sup> .....113

**Figura 10** - CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem floração/solo úmido. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão.....115

**Figura 11** - CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e COS, nos 24 tratamentos, nos anos de 2013 e 2015, na amostragem pós-colheita/solo seco. Os pontos representam as médias de cada tratamento, enquanto as barras representam o erro padrão.....116

### **CAPÍTULO 3:.....136**

**Figura 1** - Relação entre o C-orgânico extraído das amostras fumigadas e não fumigadas determinados por oxidação úmida e combustão em alta temperatura (A) e “boxplot” com a distribuição desses valores (B), em que o ponto inferior refere-se ao menor valor encontrado, o ponto superior representa o maior valor encontrado, a linha contínua representa a mediana e a linha tracejada refere-se à média. Os pontos (A) representam os valores das três repetições de cada um dos 32 tratamentos. \*\*, p < 0,0001. ....149

**Figura 2** - Relação entre o carbono da biomassa microbiana determinado por oxidação úmida e combustão em alta temperatura. Os pontos representam os valores das três repetições de cada um dos 32 tratamentos analisados. \*\*, p < 0,0001. ....154

<b>ANEXOS .....</b>	<b>166</b>
<b>Figura C.1</b> - Pluviosidade mensal acumulada observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).....	176
<b>Figura C.2</b> - Radiação mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).....	176
<b>Figura C.3</b> - Temperatura mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).....	177
<b>Figura C.4</b> - Umidade relativa mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).....	177

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>CAPÍTULO 1:</b> .....	<b>25</b>
<b>Tabela 1</b> - Descrição dos 24 tratamentos selecionados dos experimentos I, II e III e valores acumulados dos diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e milho (RAG). .....	<b>32</b>
<b>Tabela 2</b> - Atividade enzimática e carbono orgânico do solo, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015, na fase de floração/solo úmido.....	<b>40</b>
<b>Tabela 3</b> - Atividade enzimática e carbono orgânico do solo, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015 na fase pós-colheita/solo seco. ....	<b>41</b>
<b>Tabela 4</b> - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de carbono orgânico do solo, utilizando o conceito de amostra FERTBIO (pós-colheita/solo seco). ....	<b>47</b>
<b>Tabela 5</b> - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de matéria orgânica do solo, com amostras coletadas na floração/solo úmido. ....	<b>48</b>
<b>Tabela 6</b> - Atividade enzimática, em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015 na fase pós-colheita/solo úmido. ....	<b>53</b>



<b>Tabela 7</b> - Atividade enzimática de um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado antes e após a secagem ao ar. Amostragem realizada na fase pós-colheita, na camada de 0 - 10 cm Os dados representam médias de dois anos (2013 e 2015). .....	55
<b>Tabela 8</b> - Contribuição (%) dos fatores tratamento, ano e de sua interação na variância total das enzimas $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida e no carbono orgânico do solo (COS) nas amostragens realizadas nas fases floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco.....	58
<b>CAPÍTULO 2:</b> .....	70
<b>Tabela 1</b> - Descrição dos 24 tratamentos selecionados dos experimentos I, II e III e valores acumulados dos diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e milho (RAG). ....	80
<b>Tabela 2</b> - Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana ( $\text{mg kg}^{-1}$ solo), em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0 - 10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015 nas fases floração/solo úmido e pós-colheita/solo seco. .....	94
<b>Tabela 3</b> - Atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e urease em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015, na fase de floração/solo úmido.....	95
<b>Tabela 4</b> - Atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase alcalina, FDA e urease em um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, na camada de 0-10 cm, em amostras coletadas em 2013 e 2015, na fase de pós-colheita/solo seco. ....	96

<b>Tabela 5</b> - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de matéria orgânica do solo, com amostras coletadas na floração/solo úmido. ....	107
<b>Tabela 6</b> - Interpretação dos níveis de atividade enzimática para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0-10 cm, com base no rendimento relativo acumulado de grãos de soja e milho e no teor de matéria orgânica do solo, com amostras coletadas na pós-colheita/solo seco. ....	108
<b>Tabela 7</b> - Contribuição (%) dos fatores tratamento, ano e de sua interação, na variância total do CBM, NBM, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA, nas amostragens realizadas nas fases floração/solo úmido e pós-colheita/ solo seco. ....	118
<b>CAPÍTULO 3:</b> .....	<b>136</b>
<b>Tabela 1</b> - Atributos químicos das amostras de solo dos experimentos avaliados. ....	144
<b>Tabela 2</b> - Carbono orgânico das amostras fumigadas e não fumigadas determinados por oxidação úmida e combustão em alta temperatura dos 32 tratamentos avaliados. ....	150
<b>Tabela 3</b> - Carbono da biomassa microbiana determinado por oxidação úmida e combustão em alta temperatura dos 32 tratamentos avaliados. ....	151

<b>ANEXOS .....</b>	<b>166</b>
<b>Tabela A.1</b> - Análises químicas e granulométricas do solo das três áreas experimentais, na camada de 0 a 20 cm, antes da implantação dos experimentos. ....	167
<b>Tabela A.2</b> - Mineralogia <sup>1</sup> do solo, na camada de 40 a 60 cm, antes da implantação dos experimentos (Nunes, 2014). ....	169
<b>Tabela B.1</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de floração/solo úmido. ....	170
<b>Tabela B.2</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de floração/solo úmido. ....	171
<b>Tabela B.3</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de pós-colheita/solo úmido. ....	172
<b>Tabela B.4</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de pós-colheita/solo úmido. ....	173
<b>Tabela B.5</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de pós-colheita/solo úmido, após a secagem ao ar (pós-colheita/solo seco). ....	174
<b>Tabela B.6</b> - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de pós-colheita/solo úmido, após a secagem ao ar (pós-colheita/solo seco). ....	175

## RESUMO GERAL

A interpretação dos valores individuais dos atributos microbiológicos tem sido um dos principais entraves encontrados por pesquisadores para se utilizar os bioindicadores, rotineiramente, em análises sobre o funcionamento da maquinaria biológica do solo. Aproveitando um gradiente de matéria orgânica do solo e rendimento acumulado de grãos de soja e de milho, estabelecidos em um experimento de longa duração, em função de diferentes doses e modos de aplicação de fósforo - P, esta tese de doutorado deu continuidade aos trabalhos de interpretação de bioindicadores, iniciados por Lopes et al., (2013), nos Latossolos argilosos de Cerrado. O principal objetivo foi o de ampliar as tabelas de interpretação dos bioindicadores, com amostras de solo coletadas não só na fase de floração das culturas, mas também, após a colheita das mesmas. Além disso, também foi avaliada, para diferentes atributos microbiológicos (carbono e nitrogênio na biomassa microbiana (CBM e NBM) e enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase, fosfatase ácida, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA), a possibilidade de unificação da época de coleta de solo e dos processos de pré-tratamento das amostras de microbiologia e fertilidade de solo (peneiramento a 2 mm e secagem ao ar), gerando o conceito de amostragem FERTBIO. As avaliações foram conduzidas em 2013 e 2015, na fase de floração, com solo úmido, e na fase de pós-colheita, com solo seco ao ar. Além da boa adequação à amostragem realizada na pós-colheita/solo seco, observou-se uma baixa variabilidade anual das enzimas arilsulfatase e  $\beta$ -glicosidase (capítulo 1) bem como do CBM e da desidrogenase (capítulo 2) nas duas épocas de amostragem. No caso específico das enzimas  $\beta$ -

glicosidase e arilsulfatase, essas características, aliadas aos estudos que comprovam sua eficácia no monitoramento de áreas agrícolas, facilitam a adoção desses bioindicadores, em análises comerciais de solo, como parâmetros indicadores do seu biofuncionamento. O NBM e o ensaio de FDA não foram eficientes como bioindicadores capazes de diferenciar os tratamentos e não tiveram suas variações associadas ao rendimento acumulado de grãos e ao carbono orgânico do solo, impossibilitando a delimitação de classes de suficiência. Com exceção da enzima urease, a amostragem realizada na pós-colheita/solo seco promoveu reduções significativas na atividade de todos bioindicadores avaliados, tendo como consequência, o estreitamento na amplitude das classes de interpretação baixo/adequado. O ensaio de hidrólise de FDA foi o único parâmetro para o qual a amostragem pós-colheita/solo seco não foi representativa da amostragem floração/solo úmido. Em um outro estudo, observou-se relação linear positiva e significativa entre os teores de C orgânico da biomassa microbiana determinados pelos métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura. O método de combustão a alta temperatura detectou, em média, 6,3% mais C orgânico do que o método por oxidação úmida. A equação  $y = 0,938(x)$  deve ser utilizada para conversão dos valores de CBM, determinados por combustão a alta temperatura (x), em valores determinados pelo método de oxidação úmida (y), para Latossolos argilosos de Cerrado.

**Palavras chaves:** carbono da biomassa microbiana, nitrogênio na biomassa microbiana,  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase, fosfatase ácida, desidrogenase, fosfatase alcalina, urease, FDA, bioindicadores, secagem do solo.

## THESIS ABSTRACT

The interpretation of individual values of microbiological attributes has been one of the main constraints limiting the use of bioindicators, in commercial soil analysis. Taking advantage of a soil organic matter gradient, established on a long-term experiment, due to the application of various doses and placement methods of P-fertilizers, this doctoral thesis continued the research of interpretation of biological indicators, started by Lopes et al., (2013), in a clayey Cerrado Oxisol. The main objective was to generate interpretation tables for biological indicators with soil samples collected not only at the crop flowering stage, but also at the post-harvest stage. We also evaluated, for different microbiological attributes (carbon and nitrogen in the microbial biomass (MBC and MBN) and  $\beta$ -glucosidase, arylsulfatase, acid phosphatase, dehydrogenase, alkaline phosphatase, urease and FDA enzymes), the possibility of unifying the sampling procedures for microbiology and fertility, generating the FERTBIO samples (for soil fertility and biology). . During a two-year period (2013 and 2015), soil samples (0 to 10 cm) were collected at the flowering and at the post-harvest stage, in 24 treatments from three long-term experiments. Samples were analyzed to determine their enzyme activities and soil organic carbon (SOC) content. In addition to good adequacy for post-harvest sampling with air-dried soil samples, arylsulfatase and  $\beta$ -glucosidase (chapter 1) and MBC and dehydrogenase (Chapter 2) also presented a low annual variability. These features facilitate their adoption in soil commercial analysis, as indicators of the soil biological functioning. . MBN and FDA were not able to differentiate the treatments and did not have their variances associated with the RCY and SOC, preventing the delimitation

of sufficiency classes. With the exception of urease,. air-drying of soil samples at the post-harvest stage promoted significant reductions for all bioindicators evaluated. As a consequence a reduction in the range of low/adequate interpretation classes occurred. FDA was the only parameter for which the air-dried/post-harvest sampling did not represent the field-moist/flowering stage sampling. In a study presented in Chapter 3 we observed a significant positive linear relationship between the organic carbon content of the microbial biomass determined by wet oxidation and combustion at high temperature methods. The combustion at high temperature method detected on average 6.3% more organic C than the wet oxidation method. The equation  $y = 0.938 (x)$  must be used for conversion of MBC values determined by combustion at high temperature (x) in values determined by wet oxidation method (y) for the clayey Cerrado Oxisols.

**Keywords:** microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen,  $\beta$ -glucosidase, arylsulfatase, acid phosphatase, dehydrogenase, alkaline phosphatase, urease, FDA, bioindicators, air-drying.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Práticas agrícolas de manejo de solo que favoreçam o funcionamento da maquinaria biológica são fundamentais devido a seu envolvimento na dinâmica da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, decomposição de resíduos vegetais e formação da estrutura do solo (Acosta-Martínez et al., 2008). Porém, diferente do que ocorre com os indicadores químicos de fertilidade, cujos níveis (baixo, médio, adequado e alto) já estão relativamente bem definidos, é difícil medir e interpretar indicadores microbiológicos, independentemente de um controle ou referencial de comparação (Dick, 1992). A interpretação individual de atributos microbiológicos tem sido um dos principais entraves encontrados por pesquisadores para se utilizar parâmetros microbiológicos rotineiramente em análises sobre o funcionamento da maquinaria biológica do solo.

Aproveitando um gradiente de matéria orgânica do solo e rendimento acumulado de grãos de soja e de milho, estabelecidos em um experimento de longa duração, em função de diferentes doses e modos de aplicação de fósforo - P, Lopes et al. (2013) desenvolveram a primeira estratégia para interpretação de atributos microbiológicos e bioquímicos. Nessa estratégia, foram utilizados os mesmos princípios das curvas de calibração de nutrientes e, como resultado, foram publicadas as primeiras aproximações das tabelas de interpretação de bioindicadores em Latossolos argilosos do Cerrado. Essas tabelas de interpretação, únicas na literatura, estabeleceram, pela primeira vez, níveis críticos para carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração basal e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, celulase, fosfatase ácida e arilsulfatase.



Entretanto, o trabalho de Lopes et al. (2013) não teve a pretensão de esgotar esse assunto, mas sim, de ser um ponto de partida. Esta tese de doutorado é uma continuação dos trabalhos iniciados por Lopes et al (2013). Aproveitando a valiosa oportunidade oferecida pelos experimentos de longa duração de P, na Embrapa Cerrados, o principal objetivo foi o de ampliar as tabelas de interpretação dos bioindicadores, com amostras de solo coletadas não só na fase de floração das culturas, mas também, após a colheita das mesmas. Além disso, também foi avaliada, para diferentes atributos microbiológicos, a possibilidade de se usar o mesmo pré-tratamento que é utilizado para análises de fertilidade de solo, ou seja, peneiramento a 2 mm e secagem ao ar.

Considerando a grande quantidade de fatores e de atributos microbiológicos envolvidos, a tese foi dividida em três capítulos.

No capítulo 1, foi avaliada a aplicação do conceito de amostra FERTBIO (unificação das épocas de amostragem e do pré-tratamento de amostras de solos para avaliações de fertilidade e microbiologia) para as enzimas de solo:  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida. Essas enzimas vêm sendo utilizadas nos estudos de bioindicadores conduzidos pela Embrapa Cerrados desde 1998 e, devido a sua performance nesses estudos, possuem grande chance de serem recomendadas para utilização nas análises comerciais de solo.

No capítulo 2, considerou-se que os experimentos de longa duração de P, da Embrapa Cerrados, consistem em uma oportunidade tão única e tão valiosa que se aproveitou para também serem geradas tabelas de interpretação para outros bioindicadores, além daqueles que haviam sido objeto de estudos desde 1998. Nesse sentido, foram incluídas as análises de N na biomassa microbiana (NBM) e

análises das enzimas: desidrogenase, fosfatase alcalina, urease e FDA. O carbono da biomassa microbiana também foi incluído nesse capítulo, pois a metodologia de determinação utilizada foi a de combustão em alta temperatura, em um analisador de C orgânico, diferente da metodologia de oxidação úmida utilizada no trabalho de Lopes et al. (2013). Além de tabelas de interpretação com amostras coletadas na fase de floração, também foram geradas tabelas usando o conceito de amostra FERTBIO.

Por fim, no capítulo 3, é apresentado um estudo específico, conduzido paralelamente aos trabalhos da tese, em que foram comparadas duas metodologias de determinação do carbono orgânico microbiano após sua extração com sulfato de potássio: oxidação úmida e combustão em alta temperatura.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Ampliar as tabelas de interpretação de indicadores microbiológicos para os Latossolos argilosos, da região dos Cerrados, com amostras de solo coletadas não só na fase de floração, mas também, com amostras coletadas após a colheita das culturas e com secagem do solo ao ar.

## 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Avaliar a possibilidade de unificação da época de coleta de solo e dos processos de pré-tratamento das amostras de microbiologia e fertilidade de solo (com secagem à temperatura ambiente e peneiramento em 2 mm), para as determinações do C e do N da biomassa microbiana e também para as seguintes atividades enzimáticas:  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase, fosfatase ácida, urease, desidrogenase, fosfatase alcalina e FDA;
- 2- Gerar tabelas de interpretação para o C e o N da biomassa microbiana e, também, para as atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase, fosfatase ácida, urease, desidrogenase, fosfatase alcalina e FDA utilizando o conceito de amostra FERTBIO (pós-colheita/solo seco ao ar);
- 3- Gerar a segunda aproximação da tabela de interpretação para as atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase ácida e para o carbono da biomassa microbiana, com amostras coletadas na fase de floração/solo úmido, nos anos de 2013 e 2015;
- 4- Gerar a primeira aproximação das tabelas de interpretação para o N da biomassa microbiana, urease, desidrogenase, fosfatase alcalina e FDA com amostras coletadas na fase de floração/solo úmido nos anos de 2013 e 2015;
- 5- Avaliar as relações entre determinações do carbono da biomassa microbiana (CBM) por meio dos métodos de oxidação úmida e combustão em alta temperatura e o uso de fatores de correção entre as duas determinações.

### **3. REFERENCIAL TEÓRICO**

#### **3.1. SOLO, AGRICULTURA E O CERRADO**

O solo é um corpo dinâmico, vivo e natural com funções fundamentais nos ecossistemas terrestres. Os componentes do solo incluem a matéria mineral inorgânica (areia, sedimentos e partículas de argila), matéria orgânica, água, gases e organismos vivos e há um contínuo intercâmbio de moléculas e íons entre as fases sólida, líquida e gasosa, que são mediados pelos processos químicos, físicos e biológicos (Doran et al., 1994). Em síntese, o solo é o resultado das combinações entre o clima, o material de origem, os organismos e o tempo, sendo considerado como o substrato principal da produção de alimentos e uma das principais fontes de nutrientes e sedimentos que vão para os rios, lagos e mares (Resende et al., 2007).

Quando observado como substrato para as plantas, o solo pode ser considerado como reserva, dreno e fonte de nutrientes, à semelhança de um sistema bancário que administra o dinheiro de seus correntistas, guardando-o, protegendo-o, liberando recursos quando solicitados e, de modo muito importante, evitando perdas (Novais & Mello, 2007), sendo, dessa maneira, um dos principais componentes da agricultura.

A agricultura moderna é caracterizada pela busca constante do aumento da produtividade das culturas agrícolas por meio da utilização da mecanização, irrigação, adubação e aplicação de pesticidas, aliadas ao melhoramento dos genótipos vegetais (Zilli et al., 2003). A agricultura brasileira experimentou grande desenvolvimento durante os últimos 100 anos, obtendo aumentos significativos na

produtividade de grande número de culturas, notadamente nas últimas três décadas. Isto se deveu a inovações tecnológicas e à difusão do uso dessas técnicas (Lopes & Guilherme, 2007). O esforço conjunto da pesquisa agropecuária, as ações da assistência técnica e extensão rural, a ampliação do sistema de crédito rural e a participação dos produtores rurais e da agroindústria produziram um fenômeno interno conhecido como “primeiro ciclo da revolução da agricultura tropical no Brasil”, e a ocupação do Cerrado foi uma das principais conquistas desse ciclo (Crestana & Sousa, 2008).

A região dos Cerrados abriga o segundo maior bioma brasileiro, com 204 milhões de hectares, e possui grande destaque no cenário agrícola nacional e mundial, sendo, ao mesmo tempo, uma importante reserva da biodiversidade e potencial produtora de alimentos. Com tecnologia adequada, torna-se possível incorporar ao sistema produtivo até 127 milhões de hectares, mantendo cerca de 38% do Cerrado como reserva natural (Sano et al., 2009). Dessa forma, equacionar os problemas ambientais, relacionados à conservação dos recursos naturais, e proporcionar as condições para que a região dos Cerrados possa atender, de forma sustentável, à demanda crescente por alimentos constituem-se nos principais desafios para a agricultura dessa região no século XXI (Lopes, 2013).

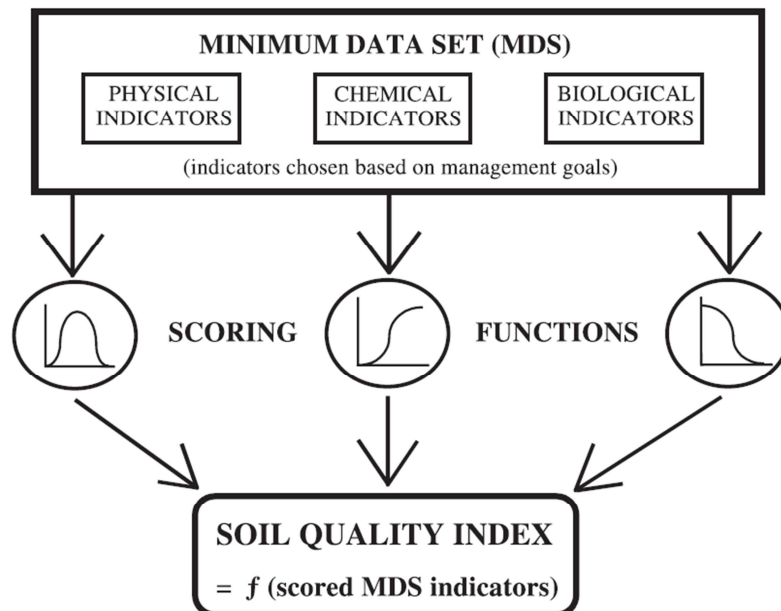
### 3.2. QUALIDADE DE SOLOS, SEUS ÍNDICES E INDICADORES

O tema “Qualidade de solos” foi citado pela primeira vez no trabalho de Alexander (1971), que recomendou o estabelecimento de critérios para a qualidade do solo. Entretanto, o tema só voltou a ganhar força no início dos anos 90, após a

Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos publicar o livro “Soil and Water Quality: An Agenda for Agriculture” (National Research Council, 1993). Isso fez com que a SSSA (Soil Science Society of America) nomeasse 14 representantes para determinar o conceito de qualidade de solos e identificar critérios e métodos para quantificá-la (Karlen et al., 1997). Após várias reuniões e debates, diversos conceitos foram criados (Larson & Pierce, 1991; Parr et al., 1992; Doran & Parkin, 1994; Harris et al., 1996; Doran & Jones, 1996), sendo que a definição mais difundida de qualidade de solo foi proposta por Doran & Parkin (1994), que a conceituaram como sendo a capacidade de esse recurso exercer várias funções, dentro dos limites do uso da terra e do ecossistema, para sustentar a produtividade biológica, manter ou melhorar a qualidade ambiental e contribuir para a saúde das plantas, dos animais e humana. Salienta-se, contudo, que o tema é polêmico e que não existe um consenso (Araújo et al., 2012).

Adotando como verdadeiro o conceito de “Qualidade de Solos” criado por Doran & Parkin (1994), a indagação ainda mais polêmica, e que perdura até hoje, é: como quantificá-la? Quando nos referimos à água e ao ar, o termo qualidade vem associado a análises de contaminantes, que tem valores pré-definidos, não havendo necessidade de se determinar uma dinâmica nem de se quantificar propriedades ecológicas, químicas, físicas e biológicas que definiriam um estado ideal para um número quase ilimitado de cenários ambientais (Sojka & Upchurch, 1999). Por outro lado, quando nos referimos ao solo, a maioria do pensamento em relação à qualidade está focado na identificação de um índice (Vezzani & Mielniczuk, 2009) que pode ser obtido por meio de uma expressão ou modelo matemático que inclua os atributos do solo considerado (Burguer & Kelting, 1999).

De acordo com Acton & Padbury (1994), um índice de qualidade do solo pode ser definido como o conjunto mínimo de parâmetros que, quando interligados, fornece dados numéricos sobre a capacidade do solo para realizar uma ou mais funções. Essa tem sido a principal estratégia utilizada por diversos grupos de pesquisa do mundo inteiro, como Karlen & Stott (1994), Chaer (2001), Andrews et al. (2004), Costa et al. (2006), Melo Filho et al. (2007), Erkossa et al. (2007), Souza (2011), Liu et al. (2014), Nakajima et al, (2015), e outros. Nesses trabalhos, têm-se dado ênfase na integração de indicadores (Figura 1) de maneira a gerar um valor (índice de qualidade do solo) que possa ser comparado entre várias práticas de manejo, ao longo do tempo, em ecossistemas agropecuários e florestais, tática que tem se demonstrado bastante flexível e de relativa facilidade de utilização.



**Figura 1** - Modelo conceitual de conversão de um conjunto de indicadores em um índice de qualidade (Karlen et al., 2003).

Quanto ao seu uso, um índice de qualidade pode ser útil para o monitoramento do estado geral e para a identificação de práticas de manejo mais adequadas, constituindo-se uma ferramenta para buscar soluções técnicas que atuem diretamente nos atributos do solo que estão pesando negativamente no índice de qualidade (Chaer, 2001). Além disso, o índice pode auxiliar no monitoramento de qualidade do solo em programas de recuperação de áreas degradadas e para orientar legislações e políticas relacionadas à ocupação do solo, podendo servir, ainda, como parâmetro de programas e políticas agrícolas bem como um referencial para valoração de terras (Tótola & Chaer, 2002). Isso se torna ainda mais claro quando se é levado em consideração que a qualidade do solo tem interligações com as práticas de manejo do terreno, produtividade e outros aspectos do ecossistema, mostrando uma interdependência controlada por mecanismos de resposta. A qualidade do solo também está conectada à saúde humana, já que o solo pode ser fonte, ou o vetor, de diversas doenças (Zornoza et al., 2015).

De acordo com Doran & Jones (1996), o cálculo do índice de qualidade do solo parte da definição de indicadores de qualidade, ou seja, dos processos e das propriedades do solo sensíveis a mudanças causadas por fatores naturais e antrópicos. Assim, os indicadores de qualidade são atributos físicos, químicos e biológicos capazes de serem alterados em resposta às variações nas condições do solo (Brejda et al., 2000; Marzaioli et al., 2010).

Segundo Elliot et al. (1994), um bom indicador deve conter os requisitos básicos: a) sensibilidade para um maior número de agentes degradantes; b) consistência na direção da mudança; c) capacidade de refletir os diferentes níveis de



degradação; d) fácil mensuração e com preço de determinação acessível; e) fácil interpretação.

Vários estudos mostram que os indicadores biológicos são mais sensíveis que indicadores químicos e físicos para detectar, com mais antecedência, alterações que ocorrem no solo em função do seu uso e manejo (Doran, 1980; Powlson et al., 1987; Dick, 1994; Matsuoka et al., 2003, Souza, 2011; Lisboa et al., 2012). Além disso, por ser capaz de indicar a intensidade de alguns processos bioquímicos, estar estreitamente relacionada com a atividade biológica e apresentar respostas rápidas às mudanças de manejo do solo, a atividade enzimática tem sido sugerida como um dos principais indicadores da atividade biológica e da qualidade do solo (Chaer & Tótola, 2007; Mendes et al., 2009; Peixoto et al., 2010; Silva et al., 2012; Lopes et al., 2013).

### 3.3. COMO INTERPRETAR OS ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS?

Um grande número de atributos do solo tem sido proposto como indicador de sua qualidade, mas para ser um indicador efetivo e quantitativo, o atributo deve possuir um quadro interpretativo. É necessário saber se um determinado valor do indicador é considerado bom e o que se deve fazer caso não seja. Para tornar a interpretação ainda mais complexa, valores considerados adequados para um tipo de solo podem não ser apropriados para outros, graças às diferentes pedogêneses que geram as várias classes de solos (Sparling et al., 2008).

Uma das grandes limitações para o uso em rotina de indicadores microbiológicos reside na dificuldade de interpretação dos valores individuais desses

parâmetros (Arshad & Martin, 2002; Gil-Sotres et al., 2005). A maior parte dos trabalhos já realizados com os atributos microbiológicos envolve a comparação de diferentes sistemas de manejo de solo e/ou culturas, inclusive usando como referência áreas não perturbadas, sob vegetação nativa (Souza, 2011). Essa dificuldade constitui um dos grandes obstáculos a serem transpostos nas avaliações de qualidade do solo, uma vez que a inclusão dos atributos microbiológicos nessas avaliações pressupõe o estabelecimento de valores que possam separar solos com diferentes condições de sustentabilidade (Tótolá & Chaer, 2002; Gil-Sotres et al., 2005). Diferentemente do que ocorre com os indicadores químicos de fertilidade, onde existem tabelas com níveis de suficiência (baixo, médio, adequado e alto) relativamente bem definidos para cada nutriente e tipo de solo, para os atributos microbiológicos esse tipo de informação é escasso.

Com base na utilização dos princípios dos ensaios de calibração de nutrientes, recentemente, foi desenvolvida uma estratégia para interpretação de atributos microbiológicos (carbono da biomassa microbiana, respiração basal e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase, celulase, arissulfatase e fosfatase ácida) para Latossolos Vermelhos de Cerrado de textura argilosa (Lopes et al. 2013). A estratégia foi baseada nas relações desses atributos, avaliados na época de florescimento das culturas, com o rendimento relativo acumulado (RRA) de grãos de soja e milho e com os teores de carbono orgânico do solo (COS), em experimentos de longa duração. Essa estratégia, até então inédita na literatura, também resultou no lançamento da primeira aproximação das tabelas de interpretação desses indicadores nos Latossolos argilosos do Cerrado.

### 3.4. VARIAÇÕES SAZONAIS, PRÉ-TRATAMENTOS E O DESAFIO DA UNIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS.

O solo é um sistema biológico altamente complexo que é influenciado por parâmetros químicos, físicos e ambientais, e isso gera um habitat variado para as comunidades microbianas (Pietramellara et al., 2002; Campos et al., 2012)

De acordo com Dick et al. (1996), com a adoção de protocolos adequados de coleta e de pré-tratamento de amostras, os resultados das pesquisas podem fornecer estimativas precisas e confiáveis das atividades enzimáticas do solo, bem como sua caracterização da variabilidade espacial e temporal.

Em geral, amostragens para análises microbiológicas são realizadas na metade da época chuvosa, preferencialmente na fase de máximo desenvolvimento das culturas (floração), e com as amostras na umidade do campo ("field-moist") (Carneiro et al., 2004; Franchini et al., 2007; Pereira et al., 2007; Carneiro et al., 2009; Hungria et al., 2009; Peixoto et al., 2010). Entretanto, essa época coincide com um período de elevada demanda de trabalho na lavoura (principalmente em termos de controle de pragas e doenças) e com a cultura estabelecida em máximo desenvolvimento, o que, na prática, dificultaria a coleta e o envio dessas amostras para o laboratório (Mendes et al. 2015). Por outro lado, a amostragem padrão para fertilidade química de solo é realizada no fim do período chuvoso (Sanzonowickz, 2004), após a colheita das culturas (no fim do período chuvoso, o solo ainda apresenta alguma umidade, o que facilita a amostragem). Isso ocorre porque essa amostragem leva em consideração a necessidade de ter o resultado da análise de solo com antecedência, para facilitar o planejamento da compra de insumos como

calcário, gesso ou adubos para a safra subsequente (as amostras devem ser enviadas aos laboratórios com a máxima antecedência possível em relação à época de plantio).

No Brasil, estudos que avaliem o funcionamento biológico do solo com amostras obtidas após a colheita das culturas, visando à unificação das amostragens de fertilidade e microbiologia, precisam ser ampliados.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; ACOSTA-MERCADO, D.; SOTOMAYOR-RAMÍREZ, D.; CRUZ-RODRÍGUEZ, L.; Microbial communities and enzymatic activities under different management in semiarid soils. **Applied Soil Ecology**, v.38, p.249 - 260, 2008.

ACTON, D.F.; PADBURY, G.A.; **Chapter 2: A conceptual framework for soil quality assessment and monitoring**. In: A Program to Assess and Monitor Soil Quality in Canada. Soil Quality Evaluation Summary. Report. Centre for Land and Biological Resources Research, Research Branch, Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, ON. 201 pp, 1994.

ALEXANDER, M.: **Agriculture's responsibility in establishing soil quality criteria**. In: Environmental Improvement – Agriculture's Challenge in the Seventies. National Academy of Sciences, Washington, D.C., pp. 66-71, 1971.

ANDREWS, S.S.; KARLEN, D.L.; CAMBARDELLA, C.A.; The soil management assessment framework: a quantitative soil quality evaluation method. **Soil Science Society of America Journal**, v.68, p.1945-1962, 2004. doi:10.2136/sssaj2004.1945

ARSHAD, M.A.; MARTIN, S.; Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems, **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.88, p.153 – 160, 2002. doi:10.1016/S0167-8809(01)00252-3

ARAÚJO, E.A.; KER, J.C.; NEVES, J.C.L.; LANI, J.L.; Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v.5, p.187 - 206, 2012.

BREJDA, J.J.; KARLEN, D.L.; SMITH, J.L.; ALLAN, D.L.; Identification of regional soil quality factors and indications in Northern Mississippi Loess Hills and Palouse Prairie. **Soil Science Society of America Journal**; v.64, p.2125 - 2135, 2000.

BURGUER, J.A.; KELTING, D.L.; Using soil quality indicators to assess forest stand management. **Forest Ecology and Management**, v.122, p.155 – 166, 1999.

CAMPOS, A.C.; ETCHEVERS, J.B.; OLESCHKO, K.L.; HIDALGO, C.M.; Soil Microbial biomass and nitrogen mineralization rates along an altitudinal gradient on the Cofre de Perote volcano (Mexico): the importance of landscape position and land

use. **Land Degradation & Development**, v.25, p.581 – 593, 2012 DOI: 10.1002/ldr.2185

CARNEIRO, R.G.; MENDES, I.C.; LOVATO, P.E.; CARVALHO, A.M.; VIVALDI, L.J.; Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.661 - 669, 2004.

CARNEIRO, M.A.C.; SOUZA, E.D.; REIS, E.F.; PEREIRA, H.S.; AZEVEDO, W.R.; Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.147 - 157, 2009.

CHAER, G.M. **Modelo para determinação de índice de qualidade do solo baseado em indicadores físicos, químicos e microbiológicos**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa - MG. 89 p. 2001.

CHAER, G.M.; TÓTOLA, M.R.; Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.381-1396, 2007.

COSTA, E.A.; GOEDERT, W.J.; SOUSA, D.M.G.; Qualidade de solo submetido a sistemas de cultivo com preparo convencional e plantio direto. **Pesquisa**

**Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1185-1191, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2006000700016>

CRESTANA, S.; SOUSA, I.S.F.; Agricultura tropical no Brasil. In: ALBUQUERQUE, A.C.S.; SILVA, A.G.; (eds. técnicos) **Agricultura tropical. Quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas**, Vol. 1. Brasília – DF: Embrapa Informação Tecnológica. p.41 – 99, 2008.

DICK, R.P.; A review: Long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. **Agriculture, Ecosystems & Environment**. v.40, p.25 – 36, 1992. doi:10.1016/0167-8809(92)90081-L

DICK, R.P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., ed. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, (Special Publication number, 35), p.107 – 124, 1994.

DICK, R.P.; THOMAS, D.R.; HALVERSON, J.J.; Standardized methods, sampling, and sample pretreatment. In: DORAN, J.W.; & JONES, A.J.; (ed.) **Methods of assessing soil quality**. Soil Science Society of America, Spec. Publ. 49, p. 107 – 122, 1996.

DORAN, J.W.; Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society of America Journal**, v.44, p.765 – 771, 1980.

DORAN, J.W.; JONES, A.J.; **Methods for assessing soil quality**. SSSA Special publication number 49. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, p 410, 1996.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., ed. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Soil Science Society of America, p.107-124, 1994.

DORAN, J.W.; SARRANTONIO, M.; JANKE, R.; Strategies to promote soil quality and health. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R. (eds.). **Soil Biota Management in sustainable farming systems**. Commonwealth Scientific Industrial Research Organization, p.230 - 237, 1994.

ELLIOT, E.T.; BURKE, I.C.; MONZ, C.A.; FREY, S.D.; PAUSTIAN, K.H.; COLLINS, H.P.; PAUL, E.A.; COLE, C.V.; BLEVINS, R.L.; FRYE, W.W.; LYON, D.J.; HALVORSON, A.D.; HUGGINS, D.R.; TURCO, R.F. & HICKMAN, M.V. **Terrestrial carbon pools in grasslands and agricultural soils: Preliminary data from the Corn Belt and Great Plains regions**. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F. & STEWART, B.A., eds. Defining soil quality for a sustainable environment. Madison: Soil Science Society of America, p. 179-191. (Special Publication number, 35), 1994.



ERKOSSA, T.; ITANNA, F.; STAHR, K.; Indexing soil quality: a new paradigm in soil science research. **Australian Journal of Soil Research**, v.45, p.129 - 137, 2007. <http://dx.doi.org/10.1071/SR06064>

FRANCHINI, J.C.; CRISPINO, C.C.; SOUZA, R.A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M.; Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v.92, p.18 – 29, 2007.

GIL-SOTRES, F.C.; TRASAR-CEPEDA, M.C. LEIROS, S. SEOANE. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology and Biochemistry**. 37:877-887. 2005. Doi10.1016/j.soilbio.2004.10.003.

HARRIS, R.F.; KARLEN, D.L.; MULLA, D.J.; A conceptual framework for assessment and management of soil quality and health, in: Methods for assessing soil quality, **Soil Science Society of America Journal.**, Madison, Wisconsin, USA, 61–82, 1996.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R.A.; Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v. 42, p. 288 – 296, 2009.

KARLEN, D.L.; MAUSBACH, M.J.; DORAN, J.W.; CLINE, R.G.; HARRIS, R.F.; SHUMAN, G.E.; Soil quality: A concept, definition and framework for evaluation (A

guest editorial). **Soil Science Society of America**, p.4-10, 1997.  
doi:10.2136/sssaj1997.03615995006100010001x

KARLEN, D.L.; STOTT, D.; **A framework for evaluating physical and chemical indicators**. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (Eds.). *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society American, p.53-72. (Special Publication, 35), 1994.

KARLEN, D.L.; DITZLER, C.A.; ANDREWS, S.S.; Soil quality: why and how? **Geoderma**, v.114, p.145 – 156, 2003. doi:10.1016/S0016-7061(03)00039-9

LARSON, W.E.; PIERCE, F.J.; Conservation and enhancement of soil quality. In: DUMANSKI, J.; PUSHPARAJAH, E.; LATHAM, M.; MYERS, R.; (eds.) **Evaluation for Sustainable Land Management in the Developing World**. Vol. 2: Technical Papers. Proc. Int. Workshop., Chiang Rai, Thailand. Int. Board for Soil Res. and Management, Bangkok, Thailand. p.15 – 21, 1991.

LISBOA, B.B.; VARGAS, L.K.; SILVEIRA, A.O.; MARTINS, A.F.; SELBACH, P.A.; Indicadores microbianos de qualidade do solo em diferentes manejos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 45 - 55, 2012.

LIU, Z.; ZHOU, W.; SHEN, J.; LI, S.; HE, P.; LIANG, G.; Soil quality assessment of Albic soils with different productivities for eastern China. **Soil and Tillage Research**, v.140, p. 74 – 81, 2014. doi:10.1016/j.still.2014.02.010

LOPES, A.A.C.; SOUSA, D.M.G.; CHAER, G.M.; REIS JUNIOR, F.B.; GOEDERT, W.J.; MENDES, I.C. Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop Yield and Organic Carbon. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p.461 - 472, 2013.

LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; I – Fertilidade do solo e produtividade agrícola. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, p.1 – 64, 2007.

MARZAIOLI, R.; D'ASCOLI, R.; De PASCALE, R.A.; RUTIGLIANO, F.A.; Soil quality in a Mediterranean area of Southern Italy as related to different land use type. **Applied Soil Ecology**, 44:205 - 212, 2010.

MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F.; Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste- MT. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.425 - 433, 2003.

MELO FILHO, J.F; SOUZA, A.L.V.; SOUZA, L.S.; Determinação do índice de qualidade subsuperficial em um Latossolo Amarelo Coeso dos Tabuleiros Costeiros, sob floresta natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, n.6, p.1599-1608, 2007.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; REIS JUNIOR, F.B.; FERNANDES, M.F.; CHAER, G.M.; MERCANTE, F.M.; ZILLI, E.J.; Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade? (**Documentos 246** / Embrapa Cerrados), Planaltina – DF, 31, 2009.

MENDES, I.C.; SOUSA, D.M.G.; REIS JUNIOR, F.B.; Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v.32, p.191, 2015.

NAKAJIMA, T.; LAL, R.; JIANG, S.; Soil quality index of a crosby silt loam in central Ohio. **Soil and Tillage Research**, v.146, p.323 – 328, 2015.  
doi:10.1016/j.still.2014.10.001

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Soil and water quality**: and agenda for agriculture. Washington, DC: National Academy Press, 542 p. 1993.

NOVAIS, R.F.; MELLO, J.W.V.; IV – Relação solo – planta. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; (eds.) **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG; Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 133 - 204, 2007.

PARR, J.F.; PAPENDICK, R.I.; HORNICK, S.; MEYER, R.E.; Soil quality: Attributes and relationship to alternative and sustainable agriculture, **American Journal Of Alternative Agriculture**., 7, 5–11, 1992.

PEREIRA, A.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; KASCHUK, G.; CHUEIRE, L.M.O.; CAMPO, R.J.; TORRES, E.; Variações qualitativas e quantitativas na microbiota do solo e na fixação biológica do nitrogênio sob diferentes manejos com soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1397 - 1412, 2007.

PEIXOTO, R.S.; CHAER, G.M.; FRANCO, N.; REIS JUNIOR, F.B.; MENDES, I.C.; ROSADO, A.S.; A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.98, p.403 – 413, 2010. doi:10.1007/s10482-010-9454-0

PIETRAMELLARA, G.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M.T.; RENELLA, G.C.; Soil as a biological system. **Annals of Microbiology**, v.52, p,119 – 131, 2002.

POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C.; CHRISTENSEN, B.T.; Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.159 - 164, 1987.

RESENDE, M.; CURI, N.; REZENDE, S.B.; CORRÊA, G.F.; **Pedologia: Base para distinção de ambientes**. 5ª ed. Lavras – UFLA, 322p., 2007.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G.; BEZERRA, H. S. Mapeamento da Cobertura vegetal natural e antrópica do bioma Cerrado por meio de imagens Landsat ETM. In: **XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Natal, Brasil, p. 1199 - 1206, 2009.

SANZONOWICKZ, C.; Amostragem de solo, corretivos e fertilizantes. In: SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E.; (eds.) **Cerrado: Correção do solo e adubação**. 2ª ed. Planaltina, Embrapa Cerrados, pp.63 - 80, 2004.

SILVA, C.F.; PEREIRA, M.G.; MIGUEL, D.L.; FEITORA, J.C.F.; LOSS, A.; MENEZES, C.E.G.; SILVA, E.M.R.; Carbono orgânico total, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio vale do Paraíba do Sul (RJ). **Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa**, v. 36, p. 1680-1689, 2012.

SOJKA, R.E.; UPCHURCH, R.R.; Reservation regarding the soil quality concept. **Soil Science Society of America Journal**, 63, 1039–1054, 1999.

SOUZA, L.M.; **Atributos químicos, físicos e biológicos, estrutura de comunidades bacterianas e qualidade de solos de Cerrado sob plantio direto e preparo convencional**. Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília – UnB, Dissertação de Mestrado, 183 p. 2011.

SPARLING, G.P.; LILBURNE, L.; VOJVODIĆ-VUKOVIĆ, M.; **Provisional targets for soil quality indicators in New Zealand**. Palmerston North, N.Z.: Manaaki Whenua Press, (Landcare Research Science series, ISSN 1172-269X ; no. 34), 64p. 2008.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M.; Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M.; (eds) **Tópicos em Ciência do Solo**, Vol. 2. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.195-276, 2002.

VEZZANI, F.M.; MIELNICZUK, J.; Uma Visão Sobre Qualidade do Solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33:743-755, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832011000100020>

ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H.L.C.; NEVES, M.C.P.; Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.20, p.391 - 411, 2003.

ZORNOZA, R.; ACOSTA, J.A.; BASTIDA, F.; DOMÍNGUEZ, S.G.; TOLEDO, D.M.; FAZ, A.; Identification of sensitive indicators to assess the interrelationship between soil quality, management practices and human health. **Soil**, v.1, p.173 – 185, 2015. doi:10.5194/soil-1-173-2015

**CAPÍTULO 3:**  
**CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA EM LATOSSOLOS DETERMINADO**  
**POR OXIDAÇÃO ÚMIDA E COMBUSTÃO A TEMPERATURA ELEVADA**

*Artigo publicado na revista Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.50, n.11, p.1061-1070, nov. 2015, DOI: 10.1590/S0100-204X2015001100009*



## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as relações entre os métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura, utilizados em determinações do carbono da biomassa microbiana, e verificar a necessidade do uso de fatores de correção entre os dois métodos. Foram utilizadas 96 amostras de solo, coletadas à profundidade de 0-10 cm em Latossolos Vermelhos argilosos de cerrado, sob cultivos anuais, pastagens, eucalipto e vegetação nativa. O carbono da biomassa microbiana foi determinado a partir de extratos de  $K_2SO_4$ , pelo método de fumigação-extração, por meio de oxidação úmida com dicromato de potássio com aquecimento externo, e por combustão a alta temperatura em analisador de C orgânico total. Observou-se relação linear positiva e significativa entre os teores de C orgânico determinados pelos dois métodos. O método de combustão a alta temperatura detecta, em média, 6,3% mais C orgânico do que o método por oxidação úmida.

**Palavras-chave:** analisador de carbono, bioindicadores, carbono orgânico, fumigação-extração, qualidade do solo.

## ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the relationships between the methods of wet oxidation and the combustion at high temperature, used in determinations of microbial biomass carbon, and to verify the necessity of using correction factors between the two methods. Ninety-six soil samples, collected at 0-10 cm soil depth in clayey Oxisol of the Cerrado region, under annual crops, pastures, eucalyptus and native vegetation were used. The microbial biomass carbon was determined from  $K_2SO_4$  extracts, using the fumigation-extraction method, by wet oxidation with potassium dichromate and external heating, and by combustion at high temperature in a total organic C analyser. A significant, positive, linear relationship between the contents of organic C, determined by the two methods, was observed. The combustion at high temperature method detected on average 6.3% more organic C than the wet oxidation method.

**Key Words:** carbon analyzer, bioindicators, organic carbon, fumigation-extraction, soil quality.

## 1. INTRODUÇÃO

A biomassa microbiana representa a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo, constituída, principalmente, por fungos, bactérias e arqueas (Oliveira et al., 2001; Mendes et al., 2009; Kaschuk et al., 2010). Esses microrganismos atuam nos processos de decomposição e síntese da matéria orgânica do solo, formação e estabilização de agregados, intemperização de rochas, biorremediação de áreas afetadas por poluentes e metais pesados e, no controle e supressão biológica de fitopatógenos (Reis Júnior & Mendes, 2007). Por todas essas razões, a biomassa microbiana é um componente importante para manter a qualidade do solo e a produtividade das plantas (Nogueira et al., 2006; Reis Júnior & Mendes, 2007). Em três experimentos de longa duração, conduzidos em Latossolo Vermelho argiloso de cerrado, Lopes et al. (2013) relataram sobre a relação significativa e direta entre o carbono da biomassa microbiana (CBM), a matéria orgânica do solo e o rendimento acumulado de grãos de soja e milho.

Uma das principais vantagens do uso do CBM e da atividade enzimática, como bioindicadores de qualidade de solo, é a sensibilidade dos parâmetros microbiológicos para detectar os efeitos de diferentes manejos do solo, em estágio anterior ao das alterações dos teores de matéria orgânica (Chaer & Tótola, 2007; Hungria et al., 2009; Silva et al., 2009). Porém, diferentemente dos indicadores químicos de fertilidade, cujos valores de referência já estão relativamente bem definidos para cada elemento e tipo de solo, é difícil medir e interpretar indicadores microbiológicos, independentemente de um controle ou referencial de comparação (Mendes et al., 2009). Com base nos princípios das curvas de calibração de

nutrientes, Lopes et al. (2013) desenvolveram um método para a interpretação de atributos microbiológicos e bioquímicos, em Latossolos Vermelhos de textura argilosa do Cerrado, que incluiu o CBM determinado pelo método fumigação-extração com oxidação úmida. Como resultado, foi publicada a primeira aproximação da Tabela de interpretação desse bioindicador nos Latossolos argilosos do Cerrado.

O método de fumigação-extração (Vance et al., 1987) é baseado na esterilização parcial (fumigação) de amostras de solo, com clorofórmio, e posterior extração do C orgânico (Joergensen, 2010). A determinação é feita com base nas diferenças entre os teores de C orgânico, extraídos com sulfato de potássio, de amostras de solo fumigadas com clorofórmio e não fumigadas. Após a extração com sulfato de potássio, o C dissolvido no extrato é oxidado por via úmida, por aquecimento com uma mistura de dicromato de potássio, ácido sulfúrico e ácido fosfórico concentrados, com aquecimento externo por 30 min, a aproximadamente 150°C, em sistema de refluxo. O excesso de dicromato é titulado com sulfato ferroso amoniacal (Brookes & Joergensen, 2005).

O C orgânico de amostras de solo também pode ser analisado por combustão, em fornos de alta temperatura (acima de 700°C), com detecção por cromatografia gasosa, espectrometria de infravermelho e gravimetria. Com os atuais equipamentos automatizados a preços relativamente acessíveis, surge também a possibilidade de uso de uma química mais limpa para as avaliações, não só do CBM, mas também da própria matéria orgânica do solo, por dispensar o uso do oxidante que contém cromo, além dos ácidos fosfórico e sulfúrico, utilizados como catalisadores.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar as relações entre os métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura, utilizados em determinações do CBM, e verificar a necessidade do uso de fatores de correção entre os dois métodos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado no campo experimental da Embrapa Cerrados, em Planaltina, DF (15° 36' 6,59" S e 47° 42' 33,38" W, a altitude de 980 m). Para avaliar as relações entre os métodos de determinação analítica do CBM, utilizaram-se dois grupos de amostras de solo, ambos coletados a profundidade de 0 a 10 cm de um Latossolo Vermelho argiloso de cerrado.

O primeiro grupo foi formado por 72 amostras, coletadas de 24 tratamentos provenientes de três experimentos de longa duração, em delineamento de blocos ao acaso e três repetições. Na safra 2012/2013, as parcelas desses experimentos estavam sob o cultivo de milho. Nesses 24 tratamentos, diferentes doses e formas de aplicação de superfosfato triplo possibilitaram a formação de P extraível, que produziu um gradiente de diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e de milho (RAG). Em razão dos diferentes aportes de biomassa da parte aérea e raízes das culturas, também foi estabelecido um gradiente de matéria orgânica do solo. A descrição detalhada do histórico desses três experimentos de longa duração e dos 24 tratamentos foi feita por Lopes et al. (2013).

O segundo grupo foi formado por 24 amostras, coletadas de um experimento de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) iniciado em janeiro de 2009, em uma

área de pastagem degradada e em cinco áreas sob vegetação nativa de cerrado. No experimento de ILPF, foram selecionadas duas áreas sob eucalipto e pastagem. Os renques de *Eucalyptus cloeziana* tem sete linhas, e o espaçamento entre os renques é de 22 metros. No período de 2009 a 2012, foram realizados cultivos anuais entre os renques de eucalipto, constituídos por sorgo em março de 2009, adubados com 350 kg ha<sup>-1</sup> da formula NPK 8-20-15, e soja, adubada com 400 kg ha<sup>-1</sup> da formula 0-20-20, nas safras 2009/2010, 2010/2011 e 2011/2012. Em fevereiro de 2012, após a colheita da soja, foi iniciado o ciclo de pastagem com o cultivo de sorgo granífero “BRS 330”, adubado com 350 kg ha<sup>-1</sup> da formula 8-20-15, em consórcio com a *Brachiaria brizantha* “BRS Piatã”. Também foi incluída nas avaliações uma área de pastagem degradada (*Brachiaria brizantha* “BRS Piatã”, distante aproximadamente 3 km do experimento de ILPF, formada em 2005/2006 pela integração lavoura-pecuária. A última adubação nessa área foi realizada em 2009, quando foram aplicados 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia.

Cinco áreas sob vegetação nativa de cerrado – quatro áreas de cerrado sensu stricto e uma de cerradão – foram utilizadas como referência das condições originais do solo. As áreas do experimento de ILPF (eucalipto, pastagem), a pastagem degradada e as áreas sob vegetação nativa foram divididas em três talhões de 10x10 m, que totalizaram 24 amostras.

Em todos os locais, as amostras de solo foram coletadas da camada de 0-10 cm, nos meses de janeiro e fevereiro de 2013 (época chuvosa), com uso de um trado holandês de 5 cm de diâmetro. Das parcelas dos 24 tratamentos que estavam sob cultivo de milho, foram coletadas 20 subamostras, tendo sido três no centro das linhas de plantio e 17 nas entrelinhas. Das áreas sob cerrado nativo, eucalipto,

pastagem e pastagem degradada, cada amostra de solo foi composta por nove subamostras, que foram homogeneizadas para a obtenção de uma amostra composta por parcela. No total, foram obtidas 96 amostras – 72 amostras dos três experimentos de longa duração e 24 das áreas sob cerrado nativo, ILPF (eucalipto e pastagem) e pastagem degradada – e suas características químicas estão apresentadas na Tabela 1.

Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, transportadas para o laboratório e armazenadas a 4°C até o momento da realização das análises. No laboratório, as amostras foram passadas por peneira de malha de 4 mm, e os resíduos de plantas e raízes foram retirados manualmente.

Para a estimativa do CBM, utilizou-se o método de fumigação-extração (FE), proposto por Vance et al. (1987). Para cada amostra, realizaram-se três repetições analíticas fumigadas e três não fumigadas de 20 g cada uma. Quando necessário, o teor de umidade das amostras foi ajustado, para que 55% do espaço poroso do solo fosse preenchido por água. Estas amostras foram pré-incubadas, no escuro, à temperatura ambiente, por um período de sete dias. Em seguida, metade das amostras foi fumigada por 48 horas, em um dessecador que continha uma placa de Petri com 25 mL de clorofórmio sem álcool. Durante este período, as amostras não fumigadas foram mantidas em condição ambiente. O CBM foi extraído pela adição de 50 mL de uma solução de sulfato de potássio ( $K_2SO_4$  a  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ) às amostras de solo que foram, em seguida, submetidas à agitação horizontal (150 rpm) por 40 min. Depois disso, as amostras foram filtradas em papel-filtro Whatman nº 2.

**Tabela 1-** Atributos químicos das amostras de solo dos experimentos avaliados.

Tratamento	COS g Kg <sup>-1</sup>	pH H <sub>2</sub> O	Al --- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ---	H+Al	P --- mg dm <sup>-3</sup> ---	K	Ca --- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ---	Mg
Experimentos I, II e III								
1	13,30	5,42	0,23	5,67	0,93	77,00	1,98	0,54
2	13,30	5,66	0,09	5,12	1,05	92,67	2,20	0,74
3	14,40	5,47	0,21	5,77	1,02	57,00	2,25	0,75
4	14,20	5,59	0,14	5,33	1,16	84,67	2,12	0,79
5	14,60	5,55	0,16	5,30	1,29	78,00	2,24	0,77
6	19,70	5,65	0,10	5,77	9,68	99,33	3,67	1,39
7	19,40	5,59	0,07	5,82	10,90	71,67	3,37	1,19
8	19,90	5,52	0,16	6,23	10,44	77,33	3,75	1,23
9	17,00	5,21	0,40	6,50	5,46	79,67	2,31	0,79
10	20,00	5,24	0,24	6,76	11,50	64,67	3,47	1,10
11	19,20	5,28	0,27	7,08	32,87	56,67	3,47	1,07
12	17,80	5,35	0,25	7,09	3,62	95,33	2,75	1,19
13	20,70	5,37	0,13	6,68	11,87	88,00	3,97	1,83
14	20,60	5,33	0,23	6,79	33,10	61,33	3,97	1,61
15	15,90	5,09	0,58	6,94	2,75	79,33	1,89	0,73
16	18,10	5,33	0,30	6,60	8,50	61,00	3,23	1,13
17	17,00	5,22	0,44	6,99	14,89	52,67	2,65	1,34
18	13,60	5,00	0,64	6,13	1,12	75,00	1,27	0,47
19	19,70	5,19	0,29	6,76	8,75	63,00	3,18	1,12
20	15,30	5,06	0,52	6,93	1,39	82,00	1,88	0,90
21	20,40	5,21	0,28	6,96	17,46	52,67	3,07	0,93
22	18,00	5,25	0,25	6,57	6,91	81,33	2,88	1,14
23	20,70	5,30	0,25	6,69	8,17	54,33	3,01	0,90
24	16,48	5,19	0,39	6,41	2,70	61,00	2,44	0,93
iLPF e Cerrados								
Eucalipto	18,12	5,12	0,18	5,33	1,16	52,67	2,00	1,19
Pastagem	19,36	5,49	0,08	4,32	2,93	122,00	2,70	1,39
Pastagem Degradada	17,03	4,83	0,46	6,20	4,28	116,00	1,25	0,61
Cerrado 1	19,56	4,99	1,04	7,85	1,03	37,67	0,54	0,35
Cerrado 2	19,21	4,96	1,38	7,53	0,96	32,33	0,25	0,16
Cerrado 3	23,91	4,95	1,70	9,29	1,43	43,67	0,23	0,33
Cerrado 4	22,86	5,14	1,21	8,98	0,74	28,00	0,04	0,15
Cerrado 5	27,15	3,85	2,63	11,92	1,47	64,67	0,07	0,21



Com os extratos de  $K_2SO_4$ , foram utilizados dois métodos para a determinação do CBM: oxidação úmida com dicromato de potássio, sob aquecimento externo, e subsequente titulação do agente oxidante não consumido na oxidação da matéria orgânica, durante a oxidação úmida com sulfato ferroso amoniacal (Vance et al. (1987), descrito em detalhes em Oliveira et al., 2001); e combustão a alta temperatura, com o analisador de C orgânico total (vario TOC cube, Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Alemanha) com detector de infravermelho. Para a determinação no analisador de C orgânico, 4 mL do extrato de sulfato de potássio foram transferidos para frascos de vidro (10 mL) e, em seguida foram diluídos a 1:1 com água destilada. Utilizou-se o módulo TOC/TNb precise (C orgânico total e N total combinado) de 1-100 ppm, e a calibração foi realizada com uma solução padrão de biftalato ácido de potássio a 50 ppm. A injeção das amostras foi automática (200  $\mu$ L) com uso de um carrossel com capacidade para 50 frascos.

Em ambos os métodos, o CBM foi estimado pela diferença entre o C extraído das amostras fumigadas e não fumigadas (EC), com um fator de correção kEC de 0,35 (Voroney et al., 1991).

Para a avaliação da distribuição dos dados de C orgânico extraído das amostras fumigadas e não fumigadas, foram gerados gráficos do tipo boxplot, em que foram avaliados as medianas, as médias e os valores mínimos e máximos das determinações. Para avaliar se as medidas apresentavam distribuição normal, utilizou-se um histograma com a distribuição das diferenças observadas entre os dois métodos. Posteriormente, realizou-se um teste de pareamento e aplicou-se o teste t de Student, para avaliar se as diferenças entre os métodos foram significativas ou não.

As relações entre os métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura foram determinadas por meio de análises de regressão com os teores de C orgânico extraído das amostras fumigadas e não fumigadas e, também, com os valores de CBM. Em ambos os casos, os valores obtidos pelo método de combustão a alta temperatura foram utilizados como variável independente (x). Os fatores de correção dos teores obtidos no TOC, para o método de oxidação úmida, foram calculados por meio do ajuste de uma equação linear com intersecção na origem. As equações e os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), bem como a significância dos modelos e dos parâmetros dos modelos, foram obtidos com auxílio do procedimento PROC REG do programa SAS (SAS Institute, Cary, NC, EUA), com o valor do intercepto igual a zero.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se relação linear positiva e significativa entre os teores de C orgânico, extraído das amostras fumigadas e não fumigadas pelos dois métodos - oxidação úmida e combustão a alta temperatura (Figura 1). A equação que descreveu essa relação foi a de um modelo linear ( $y = 0,942 x$ ), com  $R^2 = 0,926$  ( $p < 0,0001$ ). O coeficiente angular da regressão linear, 0,942, mostra que a relação entre os dois métodos foi bastante próxima de 1, o que indica que os teores de C, determinados a partir da oxidação úmida, foram inferiores aos obtidos por combustão no analisador de C orgânico.

O teor médio geral de C orgânico de todas as amostras (fumigadas e não fumigadas) determinadas por combustão a alta temperatura (301 mg de C por kg

solo) foi 6,3% maior do que o de todas as amostras determinadas por oxidação úmida (283 mg de C por kg de solo) (Tabela 2). O teste de pareamento dos valores de C orgânico, obtidos via analisador de C orgânico e oxidação úmida, mostrou que essa diferença entre as duas determinações foi significativa pelo teste t de Student ( $p = 0,0001$ ). As diferenças entre os valores de C orgânico, obtidos pelos dois métodos, apresentaram distribuição normal pelo teste Kolmogorov-Smirnov ( $p < 0,01$ ).

Verificou-se que, no total das 96 amostras avaliadas, os métodos de determinação via combustão a alta temperatura e via oxidação úmida apresentaram, para os teores de C orgânico de origem microbiana, resultados médios, mínimos, máximos e medianas muito próximos (Figura 1). Os coeficientes de variação foram similares.

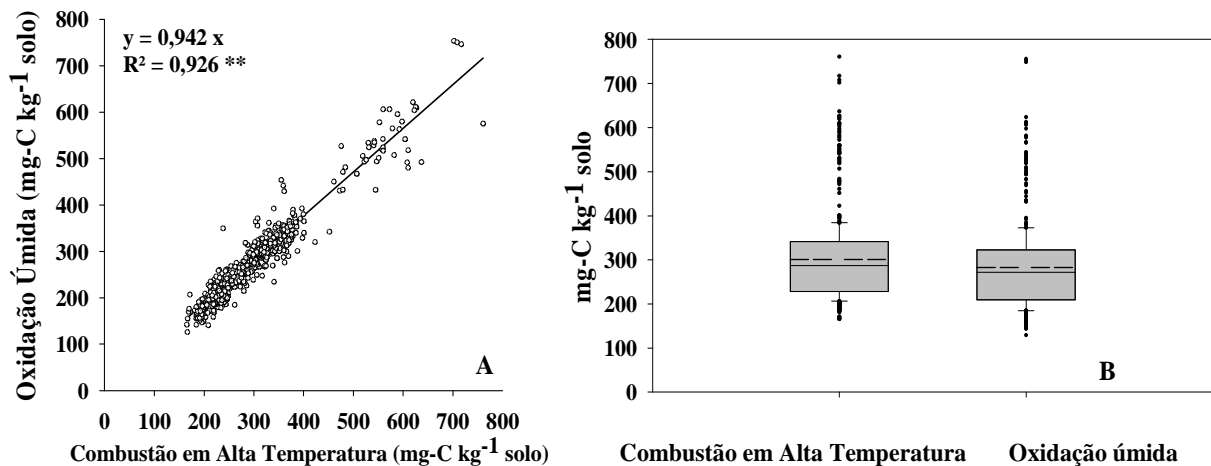
A equação de regressão que representou a relação entre os teores de CBM, determinados pelo método oxidação úmida (y) e combustão a alta temperatura (x), foi  $y = 0,938 x$ , com  $R^2 = 0,879$  ( $p < 0,0001$ ), o que evidencia a relação linear positiva e significativa entre os dois métodos (Figura 2). Verifica-se que, na determinação por combustão a alta temperatura, a média geral dos valores de CBM ( $380 \text{ mg C kg}^{-1}$  solo) foi 5,55% maior do que na oxidação úmida ( $360 \text{ mg C kg}^{-1}$  solo), valor similar ao obtido para os teores de C orgânico das amostras fumigadas e não fumigadas (Tabela 3).

Alguns autores compararam ambos os métodos utilizados no presente trabalho e verificaram que o de combustão a alta temperatura recupera mais C orgânico do solo do que o de oxidação úmida com dicromato de potássio (Rheinheimer et al., 2008; Segnini et al., 2008; Tivet et al., 2012). A subestimação do

C orgânico pelo método com oxidação úmida ocorre porque esta não é capaz de oxidar as formas de C do solo que se encontram mais protegidas em microagregados ou complexadas com a fração mineral do solo; assim, ocorre apenas uma oxidação parcial da matéria orgânica (Rheinheimer et al., 2008; Tivet et al., 2012). Quando as determinações do C orgânico – por oxidação úmida com dicromato – utilizam uma fonte externa de calor (método de Mebius), utiliza-se um fator de correção de 1,12 para os solos subtropicais (Tedesco et al., 1995), para compensar os problemas relacionados à recuperação incompleta do C orgânico e à concomitante subestimação desses valores.

Nos Latossolos argilosos do Cerrado, embora as condições em que o C orgânico de origem microbiana, determinado pelo método de oxidação úmida com aquecimento externo, sejam suficientes para quantificar praticamente a totalidade do C solúvel presente no extrato de sulfato de potássio, uma pequena parte desse C não é quantificada, e os valores obtidos pelo método de combustão a alta temperatura, em analisador de C orgânico, são 6,3% maiores.

Wu et al. (1990) trabalharam com uma variedade maior de solos, cujos teores de C orgânico variaram de 0,9 a 4,16%, e observaram 19,44% mais C orgânico medido em um analisador UV-persulfato do que pela oxidação úmida, apesar da forte relação linear ( $r = 0,997$ ) entre os métodos. Por essa razão, os autores propuseram que, para determinações em analisadores de C, todos os valores fossem divididos por 1,194, para uma melhor comparação com dados obtidos por oxidação úmida. A aplicação do fator 1,194 ao valor do kEC adotado pelos autores (0,38) deu origem ao valor de 0,45, que tem sido usado como kEC quando as determinações do C orgânico são feitas de forma automatizada (Cai et al., 2011).



**Figura 1** - Relação entre o C-orgânico extraído das amostras fumigadas e não fumigadas determinados por oxidação úmida e combustão em alta temperatura (A) e “boxplot” com a distribuição desses valores (B), em que o ponto inferior refere-se ao menor valor encontrado, o ponto superior representa o maior valor encontrado, a linha contínua representa a mediana e a linha tracejada refere-se à média. Os pontos (A) representam os valores das três repetições de cada um dos 32 tratamentos. \*\*,  $p < 0,0001$ .

No presente estudo, o método de combustão em forno de alta temperatura detectou, em média, 6,3% mais C orgânico do que o método de oxidação úmida, diferentemente do observado nos solos analisados por Wu et al. (1990), os quais apresentavam características químicas, físicas e mineralógicas distintas dos latossolos argilosos de Cerrado. Ou seja, a diferença dos valores a mais de C orgânico dos dois estudos foi três vezes menor nos latossolos de cerrado (19,44/6,3). Para explicar essa diferença, fatores relacionados aos solos avaliados e às determinações analíticas utilizadas devem ser considerados.

**Tabela 2** - Carbono orgânico das amostras fumigadas e não fumigadas determinados por oxidação úmida e combustão em alta temperatura dos 32 tratamentos avaliados.

Tratamentos	Fumigadas		Não fumigadas	
	Oxidação Úmida	Combustão em alta temperatura	Oxidação Úmida	Combustão em alta temperatura
	----- mg C kg <sup>-1</sup> solo -----			
Experimentos I, II e III				
1	249,2	275,7	220,2	237,6
2	267,7	273,6	219,5	231,0
3	271,9	293,3	235,9	236,6
4	275,7	291,7	226,1	239,5
5	269,8	286,4	226,6	232,2
6	318,6	336,4	223,1	225,8
7	313,3	334,4	223,5	230,4
8	333,6	358,6	207,2	222,3
9	306,2	318,5	203,4	210,8
10	303,7	326,6	186,5	211,4
11	306,8	323,9	186,4	205,0
12	336,6	340,6	188,0	211,2
13	308,9	343,9	177,4	201,8
14	341,2	366,1	177,2	202,0
15	305,7	318,1	217,2	236,5
16	289,9	296,0	181,8	198,0
17	314,0	327,1	196,8	219,5
18	262,5	281,0	209,5	231,8
19	345,4	361,7	200,8	229,8
20	304,9	317,4	231,9	241,0
21	353,8	375,8	199,3	225,4
22	350,1	374,0	207,4	240,3
23	354,2	386,1	213,4	226,3
24	318,9	337,3	226,5	230,5
iLPF e Cerrados				
Eucalipto	290,6	345,3	171,8	187,0
Pastagem	298,9	339,9	183,6	184,8
Pastagem degradada	319,8	358,1	172,0	192,3
Cerrado 1	503,1	579,8	289,1	315,9
Cerrado 2	483,1	509,1	282,9	284,4
Cerrado 3	532,4	532,4	296,3	313,5
Cerrado 4	578,1	628,4	319,7	332,4
Cerrado 5	617,9	601,9	363,9	323,5
Média	344,6	366,9	220,8	234,8
Relação combustão em alta temperatura /oxidação úmida				
		1,065		1,063

**Tabela 3** - Carbono da biomassa microbiana determinado por oxidação úmida e combustão em alta temperatura dos 32 tratamentos avaliados.

Tratamentos	Oxidação úmida ----- mg C kg <sup>-1</sup> solo -----	Combustão em alta temperatura -----
Experimentos I, II e III		
1	82	108
2	137	121
3	134	162
4	141	149
5	152	154
6	255	380
7	256	297
8	424	389
9	293	307
10	351	327
11	316	340
12	424	369
13	375	405
14	468	469
15	240	236
16	308	279
17	334	307
18	165	143
19	413	376
20	208	218
21	462	429
22	384	383
23	402	456
24	329	303
iLPF		
Eucalipto	350	451
Pastagem	347	457
Pastagem degradada	428	473
Cerrado 1	571	641
Cerrado 2	639	617
Cerrado 3	766	848
Cerrado 4	725	795
Cerrado 5	608	753
Média	359	380
Relação combustão em alta temperatura /oxidação úmida	1,058	

A composição das comunidades microbianas, em diferentes tipos de solo, pode resultar em mudanças no C microbiano passível de extração com  $K_2SO_4$  (Díctor et al., 1998). Esses fatores resultariam em uma maior capacidade de detecção, por oxidação úmida, do C microbiano extraído com sulfato de potássio nos latossolos de cerrado, o que pode diminuir a diferença entre os teores de C microbiano pelos dois métodos (oxidação úmida e combustão a alta temperatura).

É importante observar, também, que no estudo de Wu et al (1990) foi utilizado um analisador UV-persulfato, aparelho em que o C orgânico, em presença de persulfato de potássio, é oxidado pela luz ultravioleta a  $CO_2$ , que é quantificado com um detector de infravermelho. Embora Joergensen & Brookes (1991) tenham reportado que os analisadores UV/persulfato e os de combustão em fornos de alta temperatura tinham desempenho semelhantes, para os valores de  $E_c$  (diferença de C orgânico entre as amostras fumigadas e não fumigadas), em estudo posterior, Joergensen & Olf (1998) verificaram que os analisadores com oxidação em fornos de alta temperatura extraíram quantidades maiores de C dos extratos das amostras não fumigadas, tendo apresentado maior capacidade para detecção de compostos recalcitrantes, tais como compostos aromáticos. Isso pode eliminar as interferências relacionadas aos aparelhos utilizados, pois, no presente estudo, utilizou-se um analisador de C baseado na combustão a alta temperatura, com melhor capacidade para detecção do C orgânico, conforme Joergensen & Olf (1998).

A definição dos valores  $kEC$  – taxa de recuperação do C microbiano após a extração com  $K_2SO_4$  – é, sem dúvida, um dos pontos críticos do método FE, pois depende dos atributos químicos e físicos dos solos. Martens (1995) revisou vários trabalhos em que o fator  $kEC$  foi determinado por diferentes métodos, e obteve

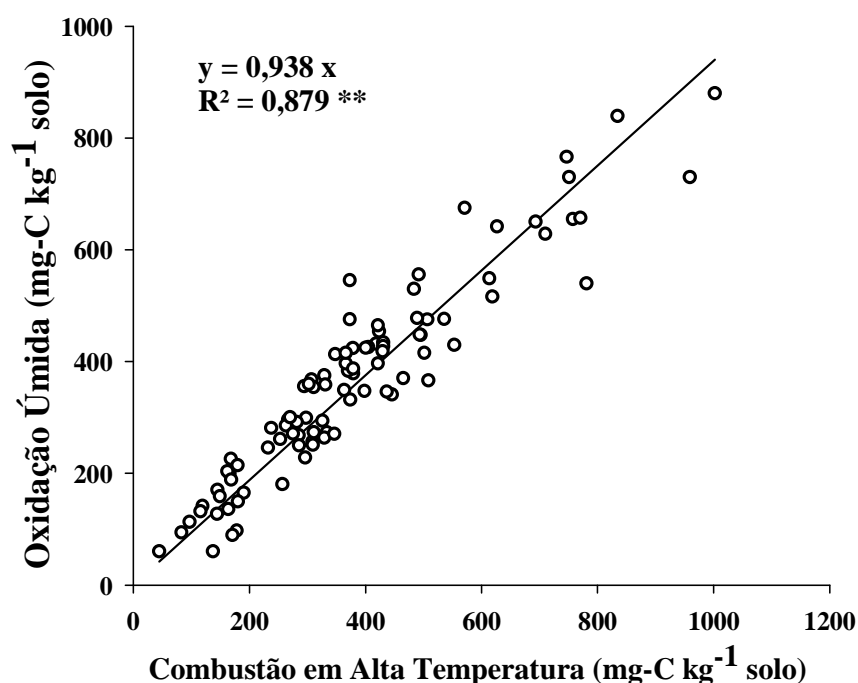


valores entre 0,1 e 0,98. Entretanto, conforme observado por Jenkinson et al. (2004), valores-padrão podem ser utilizados para diferentes tipos de solo, sem grandes erros. Voroney et al. (1991), por exemplo, sugeriram o valor de kEC de 0,35 como um valor geral para determinações da eficiência de extração do C microbiano, enquanto Ross (1990) sugeriu um valor de 0,33.

No presente estudo, pelo fato de o método de combustão em forno de alta temperatura ter detectado 6,3% a mais de C microbiano, propõe-se que esse valor não seja incorporado diretamente ao kEC, pois é evidente que essa quantidade pode variar de solo para solo. Assim, o cálculo da biomassa deve ser realizado normalmente, com base na diferença entre o C extraído das amostras fumigadas e não fumigadas (EC), com utilização de um fator de correção para estimar a taxa de recuperação do C microbiano após a extração com  $K_2SO_4$ . No presente estudo, optou-se pelo valor geral de kEC de 0,35 (Voroney et al., 1991). Quando houver necessidade de conversão dos valores de CBM obtidos por combustão a alta temperatura, para oxidação úmida, os mesmos valores deverão ser multiplicados pelo coeficiente de regressão da equação  $y = 0,938 x$ , em que x representa o método de combustão a alta temperatura, e y, o método de oxidação úmida (Figura 2).

O uso direto do kEC de 0,45, que já traz embutida a quantidade de C a mais extraída pelo método da combustão, conforme proposto no trabalho de Wu et al. (1990), resulta em subestimação dos valores de C da biomassa microbiana, por não levar em consideração as variações da capacidade de detecção do C microbiano por oxidação úmida dos diferentes solos. No presente estudo, a aplicação do valor de kEC de 0,45, que traz embutido a quantidade de C a mais extraída por combustão a

alta temperatura, a um  $E_c$  hipotético de 100, obtido por combustão a alta temperatura, resultaria em um valor de CBM de 222 mg de C kg<sup>-1</sup> de solo, 22% inferior ao valor obtido com o  $kEC$  normal de 0,35, que resulta em um valor de CBM de 285 mg de C kg<sup>-1</sup> de solo. Essa diferença entre as duas formas de cálculo é suficiente para influenciar a interpretação dos valores do CBM, com base nas tabelas desenvolvidas por Lopes et al. (2013).



**Figura 2** - Relação entre o carbono da biomassa microbiana determinado por oxidação úmida e combustão em alta temperatura. Os pontos representam os valores das três repetições de cada um dos 32 tratamentos analisados. \*\*,  $p < 0,0001$ .

O lançamento de analisadores de C orgânico a preços mais acessíveis abre a perspectiva de que os laboratórios de pesquisa passem a utilizá-los de forma mais rotineira, em razão das vantagens com automação das análises (maximização da eficiência do uso de mão de obra laboratorial) e baixa geração de resíduos no meio-ambiente. Além desses fatos e da excelente relação com o método de oxidação úmida, o uso desses equipamentos evita erros de operação, como aqueles observados durante a titulação (técnica em que o erro do ponto final da titulação, feito de maneira visual, pode produzir resultados inconsistentes). Assim, nos Latossolos argilosos de Cerrado, recomenda-se o uso do kEC normal, isto é, sem a incorporação do fator de correção de 1,194, conforme proposto por Wu et al. (1990). Deve-se destacar que os solos utilizados no presente estudo englobavam diferentes sistemas de uso (cultivos anuais sob PD e PC, pastagens, sistemas integrados com floresta e áreas sob vegetação nativa), por isso, para a utilização de equipamentos de combustão a alta temperatura para a determinação do CBM, recomenda-se a equação de regressão  $y = 0,938 \times x$  ( $x = \text{TOC}$  e  $y = \text{oxidação úmida}$ ), para a conversão dos valores para oxidação úmida, o que facilita a comparação de resultados e a sua interpretação.

#### 4. CONCLUSÕES

1. O método de combustão em forno de alta temperatura detecta, em média, 6,3% mais C orgânico do que o método de oxidação úmida.
2. A equação  $y = 0,938(x)$  é apropriada para a conversão dos valores de C da biomassa microbiana, determinados por combustão a alta temperatura (x), em valores determinados pelo método de oxidação úmida (y), para Latossolos argilosos de cerrado.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROOKES, P.C.; JOERGENSEN, R.G. Microbial biomass measurements by fumigation-extraction. In: BLOEM, J.; HOPKINS, D.W.; BENEDETTI, A. (Ed.). **Microbiological methods for assessing soil quality**. Wallingford: CABI, 2005. p.77-83. DOI: 10.1079/9780851990989.0077.

CAI, Y.F.; PENG, C.; QIU, S.; LI, Y.T.; GAO, Y.H. Dichromate digestion-spectrophotometric procedure for determination of soil microbial biomass carbon in association with fumigation-extraction. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.42, p.2824-2834, 2011. DOI: 10.1080/00103624.2011.623027.

CHAER, G.M.; TÓTOLA, M.R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1381-1396, 2007. DOI: 10.1590/S0100-06832007000600016.

DICTION, M.-C.; TESSIER, L.; SOULAS, G. Reassessment of the K<sub>ec</sub> coefficient of the fumigation-extraction method in a soil profile. **Soil Biology and Biochemistry**, v.30, p.119-127, 1998. DOI: 10.1016/S0038-0717(97)00111-9.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R.A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v.42, p.288-296, 2009. DOI: 10.1016/j.apsoil.2009.05.005.

JENKINSON, D.S.; BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S. Measuring soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.5-7, 2004. DOI: 10.1016/j.soilbio.2003.10.002.

JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C. Soil microbial biomass estimations by fumigation extraction. **Mitteilungen der Deutschen Bodenkundliche Gesellschaft**, v.66, p.511-514, 1991.

JOERGENSEN, R.G.; OLFS, H.-W. The variability between different analytical procedures and laboratories for measuring soil microbial biomass C and biomass N by the fumigation extraction method. **Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde**, v.161, p.51-58, 1998. DOI: 10.1002/jpln.1998.3581610109.

JOERGENSEN, R.G. Organic matter and micro-organisms in tropical soils. In: DION, P. (Ed.). **Soil biology and agriculture in the tropics**. Berlin: Springer, 2010. p.17-44. (Soil Biology, 21). DOI: 10.1007/978-3-642-05076-3\_2.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry**, v.42, p.1-13, 2010. DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.08.020.

LOPES, A.A. de C.; SOUSA, D.M.G. de; CHAER, G.M.; REIS JUNIOR, F.B. dos; GOEDERT, W.J.; MENDES, I.C.; Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p.461-472, 2013. DOI: 10.2136/sssaj2012.0191.

MARTENS, R. Current methods for measuring microbial biomass C in soil: potentials and limitations. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, p.87-99, 1995. DOI: 10.1007/BF00336142.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; REIS-JUNIOR, F.B. dos; FERNANDES, M.F.; CHAER, G.M.; MERCANTE, F.M.; ZILLI, J.E. **Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade?** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2009. 31p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 246).

NOGUEIRA, M.A.; ALBINO, U.B.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; BRAUN, G.; CRUZ, M.F.; DIAS, B.A.; DUARTE, R.T.D.; GIOPPO, N.M.R.; MENNA, P.; ORLANDI, J.M.; RAIMAM, M.P.; RAMPAZO, L.G.L.; SANTOS, M.A.; SILVA, M.E.Z.; VIEIRA, F.P.; TOREZAN, J.M.D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, G. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.115, p.237-247, 2006. DOI: 10.1016/j.agee.2006.01.008.

OLIVEIRA, J.R.A.; MENDES, I.C.; VIVALDI, L. Carbono da biomassa microbiana em solos de cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo: avaliação dos métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.863-871, 2001. DOI: 10.1590/S0100-06832001000400009.

REIS JÚNIOR, F.B. dos; MENDES, I. de C. **Biomassa microbiana do solo.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 40p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 205).

RHEINHEIMER, D. dos S.; CAMPOS, B.-H.C. de; GIACOMINI, S.J.; CONCEIÇÃO, P.C.; BORTOLUZZI, E.C. Comparação de métodos de determinação de carbono

orgânico total no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.435-440, 2008. DOI: 10.1590/S0100-06832008000100041.

ROSS, D.J. Estimation of soil microbial C by a fumigation-extraction method: influence of seasons, soils and calibration with the fumigation-incubation procedure. **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p.295-300, 1990. DOI: 10.1016/0038-0717(90)90103-7.

SEGNINI, A.; SANTOS, L.M. dos; SILVA, W.T.L. da; MARTIN-NETO, L.; BORATO, C.E.; MELO, W.J. de; BOLONHEZI, D. Estudo comparativo de métodos para a determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de Fe (Latosolos). **Química Nova**, v.31, p.94-97, 2008. DOI: 10.1590/S0100-40422008000100020.

SILVA, L.G. da; MENDES, I. de C.; REIS JUNIOR, F.B.; FERNANDES, M.F.; MELO, J.T. de; KATO, E. Atributos físicos, químicos e biológicos de um Latossolo de cerrado em plantio de espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.613-620, 2009. DOI: 10.1590/S0100-204X2009000600010.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p. (UFRGS. Boletim técnico, 5).



TIVET, F.; SÁ, J.C. de M.; BORSZOWSKI, P.R.; LETOURMY, P.; BRIEDIS, C.; FERREIRA, A.O.; SANTOS, J.B. dos; INAGAKI, T.M. Soil carbon inventory by wet oxidation and dry combustion methods: effects of land use, soil texture gradients, and sampling depth on the linear model of C-equivalent correction factor. **Soil Science Society of America Journal**, v.76, p.1048-1059, 2012. DOI: 10.2136/sssaj2011.0328.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987. DOI: 10.1016/0038-0717(87)90052-6.

VORONEY, R.P.; WINTER, J.P.; GREGORICH, E.G. Microbe/ plant/soil interactions. In: COLEMAN, D.C.; FRY, B. (Ed.) **Carbon isotope techniques**. San Diego: Academic Press, 1991. p.77-99. (Isotopic techniques in plant, soil, and aquatic biology, 1). DOI: 10.1016/B978-0-12-179730-0.50010-2.

WU, J.; JOERGENSEN, R.G.; POMMERENING, B.; CHAUSSOD, R.; BROOKES, P.C. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction: an automated procedure. **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p.1167-1169, 1990. DOI: 10.1016/0038-0717(90)90046-3.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inclusão de parâmetros relacionados ao funcionamento da maquinaria biológica do solo é fundamental para acessar a qualidade dos solos sob diferentes práticas de manejo agrícola (Zuber & Villamil, 2016, Mendes et al., 2015).

A grande dificuldade na inclusão dos parâmetros microbiológicos nas análises de rotina de solo residia exatamente na dificuldade de interpretar os valores individuais desses parâmetros.

Com o advento da primeira estratégia de interpretação de bioindicadores, proposta por Lopes et al. (2013), e com o lançamento das primeiras tabelas de interpretação para bioindicadores, a possibilidade da inclusão dos parâmetros biológicos nas análises de solo começou a se concretizar.

Nesta tese de doutorado, foram avaliadas as possibilidades de unificação das épocas de amostragem no campo e dos processos de pré-tratamento das amostras (secagem à temperatura ambiente e peneiramento) para avaliações de microbiologia e fertilidade de solo, gerando a amostra FERTBIO. Verificou-se que houve reduções significativas nos valores absolutos da maioria dos parâmetros avaliados (exceção, urease) quando a amostragem foi feita na fase de pós-colheita, após secagem do solo ao ar. Mesmo assim, nos Latossolos argilosos de Cerrado, sob culturas anuais de grãos, as relações do CBM,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, arilsulfatase, desidrogenase, fosfatase alcalina e urease com o COS e com o rendimento acumulado de grãos se mantiveram. Dessa forma, foi possível gerar tabelas de interpretação específicas, para a amostragem pós-colheita/solo seco, para esses indicadores microbiológicos.

Além disso, foi desenvolvida a segunda aproximação da tabela de interpretação do CBM,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, arilsulfatase, para a fase de floração/solo úmido, com dados coletados durante dois anos de amostragens (2013 e 2015). Como a geração das primeiras tabelas de interpretação dos bioindicadores para os Latossolos da região do Cerrado foi feita com dados coletados apenas em um ano de observação, ficou evidente a importância da continuidade desses estudos, uma vez que parâmetros microbiológicos, com alta variação ao longo do tempo, poderiam comprometer o uso dessas tabelas. Cabe destacar que a variabilidade anual é diferente da variação sazonal, relacionada a diferentes estações em um mesmo ano. Dessa forma, todos os trabalhos conduzidos nesta tese envolveram amostragens realizadas em dois anos distintos; 2013 e 2015, de tal forma que as tabelas aqui desenvolvidas incorporam fatores relacionados à variabilidade anual, contribuindo para maior robustez. A contribuição do fator ano na variância dos indicadores microbiológicos foi quantificada tanto para as amostragens realizadas na fase de floração/solo úmido, como para as amostragens feitas na fase de pós-colheita/solo seco. Observou-se uma baixa variabilidade anual das enzimas arilsulfatase e  $\beta$ -glicosidase (capítulo 1), bem como do CBM e da desidrogenase (capítulo 2) tanto na floração como na pós-colheita. No caso específico das enzimas  $\beta$ -glicosidase e arilsulfatase, essas características, aliadas aos estudos que comprovam sua eficácia no monitoramento de áreas agrícolas, corroboram a adoção desses bioindicadores em análises comerciais de solo como parâmetros indicadores do seu biofuncionamento.

Como linha de pesquisas futuras, permanece a necessidade de ampliação das tabelas de interpretação dos bioindicadores para outras regiões com condições

edafoclimáticas distintas das avaliadas no presente estudo (Latosolos argilosos da região do Cerrado). O estreitamento da amplitude entre as classes de interpretação, observado nas tabelas que usaram o conceito FERTBIO, pode representar uma desvantagem no uso da amostra FERTBIO (uma vez que os limites entre as classes ficam mais próximos). Assim, estudos futuros também deverão validar esse novo conceito com amostras coletadas em nível de fazendas.

Além de estabelecer os valores de referência para os bioindicadores nos Latossolos Vermelhos de Cerrado, o objetivo dessas tabelas interpretativas é o de fornecer informações sobre a eficácia dos sistemas de produção e/ou práticas de uso da terra e de seus impactos sobre a qualidade do solo. Por exemplo, um valor de teste “baixo” para os indicadores microbianos pode ser uma indicação de que práticas de manejo inadequadas estejam sendo utilizadas. Para cada bioindicador, esses limites críticos também podem ser entendidos como os valores desejáveis que devem ser mantidos para o funcionamento normal do solo.

Para que os bioindicadores possam fazer parte de um conjunto de atributos rotineiros de análises de solo, além de boa precisão, sensibilidade e coerência, é preciso que eles também sejam determinados através de metodologias que sejam práticas, demandem pouca mão de obra e sejam de preço acessível. Por isso, são necessários estudos como o do capítulo 3, onde foi avaliada a adoção de aparelhos que automatizem e padronizem as análises do carbono da biomassa microbiana.

Finalmente, os resultados obtidos nesta tese, reforçam as chances de que, em um futuro próximo, além dos atributos químicos e físicos, determinações das propriedades microbiológicas poderão também fazer parte das rotinas de análises de solo e de índices de qualidade de solo no Brasil.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LOPES, A.A.C.; SOUSA, D.M.G.; CHAER, G.M.; REIS JUNIOR, F.B.; GOEDERT, W.J.; MENDES, I.C. Interpretation of Microbial Soil Indicators as a Function of Crop Yield and Organic Carbon. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p.461 - 472, 2013.

MENDES, I.C.; SOUSA, D.M.G.; REIS JUNIOR, F.B.; Bioindicadores de Qualidade do Solo: Dos laboratórios de pesquisa para campo. **Caderno de ciência & tecnologia**, Brasília v.32, p.191 - 209, 2015.

ZUBER, S.M.; VILLAMIL, M.B.; Meta-analysis approach to assess effect of tillage on microbial biomass and enzyme activities, **Soil Biology & Biochemistry**, v.97, p.176 – 187, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.03.011>

## **ANEXOS**

## ANEXO A: DETALHAMENTO DOS EXPERIMENTOS ANALISADOS

O solo do experimento I possui textura muito argilosa. Esse experimento foi instalado em 1994 com o objetivo principal de avaliação agronômica de fontes (superfosfato triplo granulado, fosfato natural de GAFSA, fosfato natural ARAD parcialmente acidulado), modos de aplicação (lanço ou em sulco de plantio) e diferentes doses de fósforo no solo. O delineamento experimental utilizado é de blocos casualizados com três repetições, em sistema de plantio direto e de preparo convencional. As parcelas experimentais possuem 8 m x 4 m, com espaçamento entre linhas de 50 cm, 80 cm e 20 cm, para soja (*Glycine max*), milho (*Zea mays*) e milheto (*Pennisetum glaucum*), respectivamente. A área foi desmatada no ano de 1976, permanecendo sem uso agrícola até o ano de 1985, quando foi novamente desmatada e cultivada com espécies de adubos verdes por três anos (mucuna-preta, guandu e crotalária). A área permaneceu novamente sem cultivo até o ano de 1994, quando foi estabelecido o experimento. A análise química e granulométrica antes da implantação do experimento é apresentada na tabela A.1. A correção dos níveis de acidez e fertilidade foi feita de acordo com as recomendações de Sousa & Lobato (2004), visando o alto rendimento de grãos. Cultivou-se soja do ano de 1994 até a safra de 2002/2003 sem a utilização de plantas de cobertura. No ano de 2003/2004 cultivou-se milheto como planta de cobertura, repetindo o cultivo nos anos seguintes, cultivando-se o milho (2004/2005) e a partir desse cultivo a sucessão milho/soja.

**Tabela A.1** - Análises químicas e granulométricas do solo das três áreas experimentais, na camada de 0 a 20 cm, antes da implantação dos experimentos.

Experimentos	pH H <sub>2</sub> O	H+Al -----	Ca+Mg cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Al <sub>3</sub> <sup>+</sup> -----	P -- mg dm <sup>-3</sup> --	K	MOS -----	Argila (g kg <sup>-1</sup> )	Areia	Silte
I	5,4	5,27	4,42	0,08	1,0	43,5	28	640	270	90
II	5,4	3,66	4,54	0,00	10,5	58,0	23	571	357	72
III	4,5	8,10	0,40	1,40	1,2	40,0	28	540	410	50

O solo do experimento II possui textura argilosa. O experimento foi instalado em 1999 com o objetivo de avaliação de fontes (superfosfato triplo e fosfato natural reativo), modos (lanço e no sulco de plantio) e doses de aplicação de P (0, 50 e 100 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>) em área de elevada fertilidade (10,0 mg dm<sup>-3</sup> de P - Mehlich 1, na camada de 0 a 20 cm). O delineamento experimental utilizado é de blocos ao acaso em parcelas divididas, sendo que, nas parcelas, são distribuídos aleatoriamente três sistemas de manejo: sistema de preparo convencional, constituído de uma aração e uma gradagem, realizadas imediatamente antes do plantio, tendo o milheto (*Pennisetum glaucum*) como planta de cobertura (SPC milheto), sistema plantio direto com milheto (SPD milheto) e sistema plantio direto com mucuna (*Mucuna aterrima*) (SPD mucuna). Nas subparcelas, são aplicados os tratamentos de adubação fosfatada. Estas possuem área de 11 m x 4,5 m com espaçamento entre linhas de 0,45 m para soja, 0,75 m para o milho, 0,20 m para o milheto e 0,60 m para a mucuna. A área foi convertida para o uso agrícola no ano de 1976, sendo utilizada para pastagem e produção de grãos por 20 anos. No ano de 1996, a área foi novamente preparada e foram realizadas as análises químicas e granulométrica antes da implantação do experimento (Tabela A.1). A correção dos níveis de acidez e fertilidade foi feita de acordo com as recomendações de Sousa & Lobato (2004), visando o alto rendimento de grãos. Cultivou-se soja nos anos de 1996/1997 e 1997/1998, no ano de 1998/1999 cultivou-se milho, e a partir do ano 1999/2000 o experimento foi iniciado, adotando-se a sucessão soja-milho com plantas de cobertura no inverno.

O solo do experimento III possui textura argilosa. Este experimento foi instalado em 1999 e tem como objetivo principal a avaliação agrônômica de três fontes de fósforo (superfosfato triplo granulado – STg, fosfato natural reativo – FNR e mistura na proporção 1:1 de superfosfato triplo microgranulado com fosfato natural reativo – STmg + FNR), aplicadas na dose de 80 kg ha<sup>-1</sup> em dois modos de aplicação (lanço na superfície do solo e sulco de semeadura) e em três condições iniciais de P no solo (condição natural, corrigido com FNR e com STg, na dose de 240 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> total), adotando-se o sistema de plantio direto como sistema de preparo. O delineamento experimental é de blocos ao acaso, com três repetições e com estrutura fatorial completa. As parcelas possuem 11 m x 4,5 m, com



espaçamento entre linhas de 0,45 m para soja, 0,75 m para o milho e 0,20 m para o milheto. A área foi convertida para o uso agrícola em 1976, permanecendo sob vegetação espontânea até o ano de 1999. Neste ano foram realizadas as análises químicas e granulométrica antes da implantação do experimento (Tabela A.1), e em seguida a correção dos níveis de acidez e fertilidade de acordo com Sousa & Lobato (2004). Cultivou-se soja nos dois primeiros anos (1999/2000 e 2000/2001), iniciando a sucessão soja-milho no ano de 2001/2002, utilizando-se o milheto como planta de cobertura de inverno.

**Tabela A.2** - Mineralogia<sup>1</sup> do solo, na camada de 40 a 60 cm, antes da implantação dos experimentos (Nunes, 2014).

Caulinita	Gibbsita	Goethita	Hematita	Anatase
----- g kg <sup>-1</sup> -----				
634	195	61	108	17

<sup>1</sup>Calculado a partir dos teores de Si, Al, Fe, e Ti após digestão da argila com ácido fluorídrico em micro-ondas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

NUNES, R.S. **Eficiência de uso do fósforo em sistemas de manejo do solo e adubação fosfatada por um longo período**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Tese de Doutorado, 150 p., 2014.

SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E.; REIN, T.A. Adubação com fósforo. In: SOUSA, D.M.G., LOBATO, E. (Eds.) **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2.ed. Planaltina: Embrapa Informação Tecnológica, p.147-168, 2004.

## ANEXO B: UMIDADE DAS AMOSTRAS

**Tabela B.1** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de floração/solo úmido.

Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	29,53	10	2	32,61	19	3	29,11
1	2	30,67	10	3	31,57	20	1	24,70
1	3	29,83	11	1	28,84	20	2	26,18
2	1	29,75	11	2	30,43	20	3	27,14
2	2	29,72	11	3	31,64	21	1	31,03
2	3	29,93	12	1	29,63	21	2	28,75
3	1	30,69	12	2	30,79	21	3	29,34
3	2	31,00	12	3	28,74	22	1	25,24
3	3	29,26	13	1	29,32	22	2	27,47
4	1	30,22	13	2	31,46	22	3	27,24
4	2	29,31	13	3	32,59	23	1	32,21
4	3	30,32	14	1	28,90	23	2	30,78
5	1	30,84	14	2	31,22	23	3	33,44
5	2	31,07	14	3	30,86	24	1	32,18
5	3	31,39	15	1	28,92	24	2	30,87
6	1	34,23	15	2	28,48	24	3	30,71
6	2	34,58	15	3	28,46	1Cer	1	34,49
6	3	34,38	16	1	28,24	1Cer	2	35,91
7	1	36,02	16	2	31,30	1Cer	3	33,94
7	2	32,24	16	3	30,35	2Cer	1	34,33
7	3	33,86	17	1	28,42	2Cer	2	33,95
8	1	30,39	17	2	33,10	2Cer	3	32,90
8	2	32,15	17	3	33,27	3Cer	1	35,64
8	3	30,95	18	1	25,50	3Cer	2	36,41
9	1	28,40	18	2	23,63	3Cer	3	32,53
9	2	29,86	18	3	25,75	4Cer	1	34,15
9	3	29,81	19	1	25,38	4Cer	2	35,65
10	1	30,16	19	2	29,72	4Cer	3	53,26

<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

**Tabela B.2** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de floração/solo úmido.

Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	29,94	10	2	30,06	19	3	32,45
1	2	30,86	10	3	30,20	20	1	26,05
1	3	21,84	11	1	29,49	20	2	27,42
2	1	31,28	11	2	30,70	20	3	28,64
2	2	30,68	11	3	32,74	21	1	29,68
2	3	31,06	12	1	32,46	21	2	29,68
3	1	31,06	12	2	32,19	21	3	32,19
3	2	31,36	12	3	31,00	22	1	29,30
3	3	30,85	13	1	32,79	22	2	30,43
4	1	31,53	13	2	34,50	22	3	29,89
4	2	31,05	13	3	33,03	23	1	31,08
4	3	30,20	14	1	28,99	23	2	30,93
5	1	30,43	14	2	31,07	23	3	32,80
5	2	31,20	14	3	34,77	24	1	29,13
5	3	31,01	15	1	30,15	24	2	30,96
6	1	32,75	15	2	30,56	24	3	31,29
6	2	34,17	15	3	31,03	1Cer	1	31,92
6	3	27,10	16	1	30,58	1Cer	2	34,05
7	1	32,31	16	2	30,17	1Cer	3	31,65
7	2	33,61	16	3	0,00	2Cer	1	26,60
7	3	34,06	17	1	29,65	2Cer	2	31,71
8	1	32,28	17	2	33,03	2Cer	3	31,76
8	2	31,17	17	3	34,19	3Cer	1	33,10
8	3	32,37	18	1	26,97	3Cer	2	35,40
9	1	27,77	18	2	25,21	3Cer	3	33,32
9	2	28,68	18	3	26,61	4Cer	1	34,39
9	3	29,09	19	1	27,49	4Cer	2	34,54
10	1	25,80	19	2	29,90	4Cer	3	34,94

<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

**Tabela B.3** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de pós-colheita/solo úmido.

Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	20,72	10	2	24,56	19	3	23,43
1	2	21,61	10	3	23,48	20	1	16,84
1	3	19,68	11	1	22,06	20	2	17,86
2	1	22,11	11	2	23,90	20	3	16,19
2	2	21,12	11	3	26,30	21	1	25,75
2	3	19,85	12	1	23,11	21	2	24,48
3	1	21,38	12	2	24,47	21	3	24,82
3	2	21,50	12	3	23,06	22	1	22,93
3	3	21,74	13	1	24,36	22	2	22,55
4	1	22,04	13	2	26,13	22	3	21,51
4	2	20,71	13	3	26,47	23	1	22,77
4	3	22,25	14	1	23,38	23	2	23,21
5	1	22,65	14	2	26,43	23	3	22,72
5	2	21,30	14	3	26,05	24	1	23,62
5	3	20,84	15	1	22,41	24	2	22,19
6	1	28,26	15	2	20,86	24	3	25,73
6	2	30,49	15	3	19,61	1Cer	1	20,53
6	3	28,88	16	1	24,31	1Cer	2	19,93
7	1	24,62	16	2	24,69	1Cer	3	20,51
7	2	30,50	16	3	25,18	2Cer	1	22,78
7	3	29,83	17	1	24,42	2Cer	2	20,26
8	1	28,61	17	2	26,14	2Cer	3	23,54
8	2	29,27	17	3	24,42	3Cer	1	25,55
8	3	28,66	18	1	16,14	3Cer	2	27,00
9	1	17,70	18	2	14,92	3Cer	3	23,61
9	2	20,46	18	3	16,51	4Cer	1	26,45
9	3	20,87	19	1	22,04	4Cer	2	24,74
10	1	23,65	19	2	24,88	4Cer	3	26,33

<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

**Tabela B.4** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de pós-colheita/solo úmido.

Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	14,25	10	2	20,94	19	3	22,40
1	2	17,44	10	3	21,44	20	1	15,20
1	3	17,42	11	1	17,84	20	2	16,11
2	1	16,81	11	2	20,82	20	3	16,06
2	2	17,18	11	3	22,43	21	1	22,15
2	3	17,32	12	1	17,44	21	2	20,03
3	1	16,97	12	2	18,26	21	3	23,15
3	2	17,06	12	3	17,27	22	1	20,19
3	3	17,05	13	1	20,24	22	2	20,90
4	1	17,12	13	2	21,17	22	3	19,72
4	2	16,89	13	3	22,79	23	1	21,77
4	3	17,62	14	1	19,60	23	2	21,84
5	1	15,66	14	2	21,52	23	3	21,15
5	2	17,63	14	3	22,77	24	1	21,11
5	3	17,24	15	1	16,80	24	2	20,54
6	1	18,90	15	2	16,74	24	3	21,64
6	2	20,29	15	3	17,79	1Cer	1	20,08
6	3	20,14	16	1	18,39	1Cer	2	24,02
7	1	17,63	16	2	18,00	1Cer	3	23,47
7	2	19,72	16	3	18,39	2Cer	1	21,30
7	3	20,22	17	1	17,86	2Cer	2	22,34
8	1	24,08	17	2	20,14	2Cer	3	21,60
8	2	23,30	17	3	19,92	3Cer	1	28,08
8	3	23,12	18	1	15,58	3Cer	2	26,34
9	1	16,51	18	2	14,53	3Cer	3	27,26
9	2	18,07	18	3	13,84	4Cer	1	26,82
9	3	18,76	19	1	19,49	4Cer	2	25,99
10	1	18,83	19	2	21,24	4Cer	3	26,81

<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

**Tabela B.5** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2013, na fase de pós-colheita/solo úmido, após a secagem ao ar (pós-colheita/solo seco).

Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	2,48	10	2	2,57	19	3	2,17
1	2	2,81	10	3	2,17	20	1	1,94
1	3	2,05	11	1	2,31	20	2	2,30
2	1	2,28	11	2	2,36	20	3	2,06
2	2	2,73	11	3	2,19	21	1	4,35
2	3	2,70	12	1	2,25	21	2	2,30
3	1	0,32	12	2	3,91	21	3	2,80
3	2	2,61	12	3	2,14	22	1	2,95
3	3	2,29	13	1	2,35	22	2	2,21
4	1	3,82	13	2	3,16	22	3	2,27
4	2	3,16	13	3	2,23	23	1	5,54
4	3	2,15	14	1	2,55	23	2	3,14
5	1	3,14	14	2	2,87	23	3	2,79
5	2	2,38	14	3	2,82	24	1	3,36
5	3	2,41	15	1	2,20	24	2	2,13
6	1	4,22	15	2	3,47	24	3	2,31
6	2	3,22	15	3	2,75	1Cer	1	2,55
6	3	4,46	16	1	4,28	1Cer	2	2,72
7	1	2,26	16	2	3,20	1Cer	3	2,52
7	2	3,63	16	3	3,78	2Cer	1	2,25
7	3	2,27	17	1	5,02	2Cer	2	2,57
8	1	2,22	17	2	2,88	2Cer	3	2,42
8	2	2,81	17	3	2,45	3Cer	1	3,35
8	3	2,45	18	1	1,98	3Cer	2	3,17
9	1	2,14	18	2	2,20	3Cer	3	3,11
9	2	2,44	18	3	2,34	4Cer	1	5,81
9	3	2,18	19	1	2,21	4Cer	2	2,93
10	1	2,63	19	2	2,08	4Cer	3	3,35

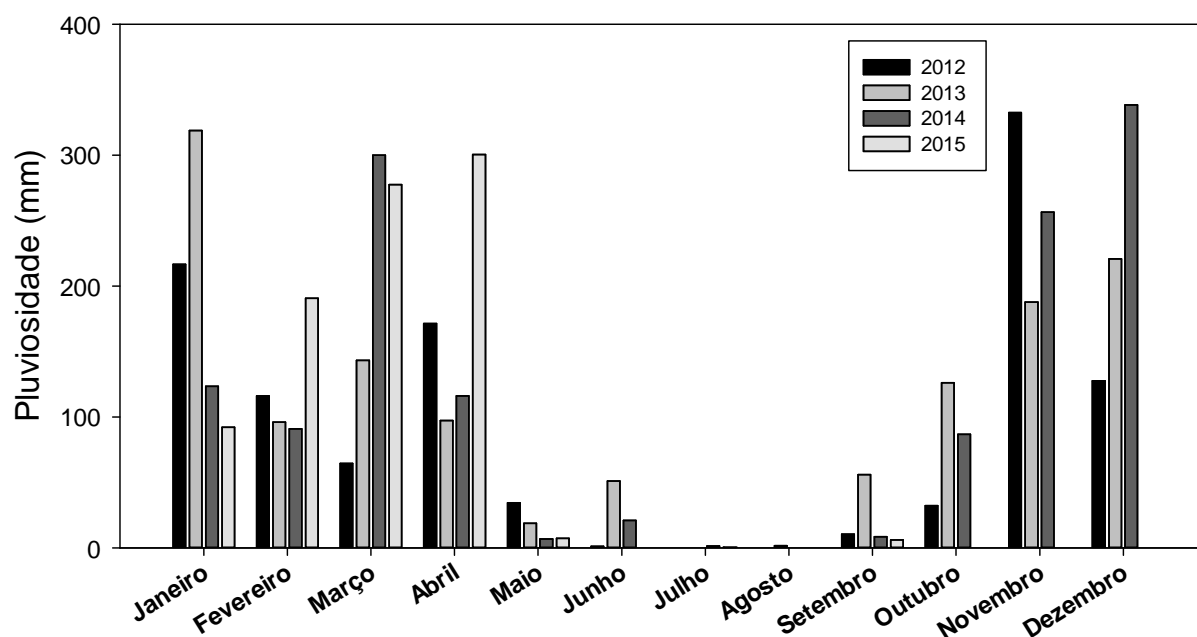
<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

**Tabela B.6** - Umidade das amostras de solo coletadas, em 2015, na fase de pós-colheita/solo úmido, após a secagem ao ar (pós-colheita/solo seco).

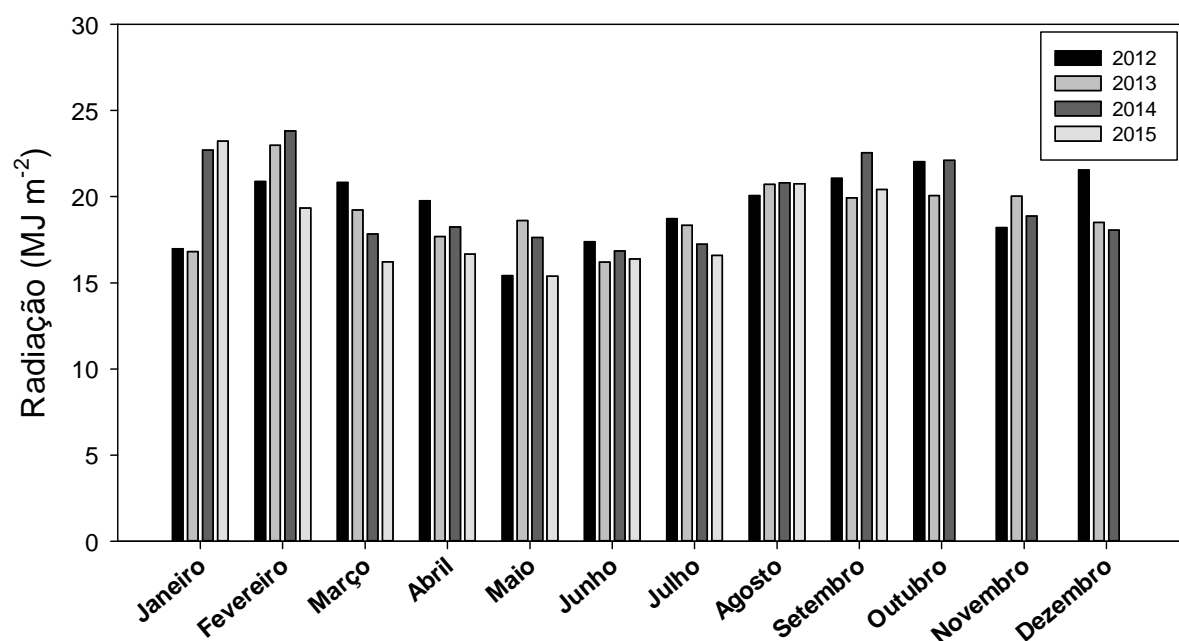
Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)	Trat <sup>1</sup>	Rep <sup>2</sup>	Umidade (%)
1	1	6,31	10	2	10,48	19	3	6,90
1	2	4,83	10	3	8,68	20	1	4,62
1	3	4,86	11	1	7,62	20	2	7,83
2	1	4,54	11	2	7,05	20	3	4,00
2	2	7,13	11	3	11,08	21	1	6,59
2	3	6,28	12	1	7,40	21	2	9,42
3	1	6,34	12	2	10,47	21	3	10,61
3	2	5,79	12	3	5,70	22	1	8,83
3	3	6,00	13	1	6,53	22	2	7,35
4	1	6,56	13	2	8,69	22	3	29,04
4	2	7,53	13	3	6,48	23	1	6,32
4	3	7,95	14	1	8,97	23	2	7,79
5	1	5,52	14	2	7,49	23	3	10,44
5	2	7,87	14	3	8,74	24	1	13,23
5	3	7,37	15	1	5,27	24	2	12,29
6	1	7,53	15	2	2,64	24	3	9,15
6	2	7,01	15	3	4,41	1Cer	1	6,52
6	3	7,33	16	1	7,01	1Cer	2	9,20
7	1	4,05	16	2	6,50	1Cer	3	11,47
7	2	7,01	16	3	3,98	2Cer	1	9,92
7	3	6,46	17	1	6,81	2Cer	2	12,16
8	1	0,00	17	2	9,50	2Cer	3	6,49
8	2	11,68	17	3	6,41	3Cer	1	13,64
8	3	8,92	18	1	6,81	3Cer	2	8,90
9	1	6,43	18	2	4,78	3Cer	3	9,14
9	2	8,91	18	3	4,66	4Cer	1	11,56
9	3	9,69	19	1	6,76	4Cer	2	11,01
10	1	9,42	19	2	7,44	4Cer	3	11,79

<sup>1</sup> Tratamento; <sup>2</sup> Repetição de cada tratamento; Cer: Cerrado.

## ANEXO C: DADOS METEREOLÓGICOS

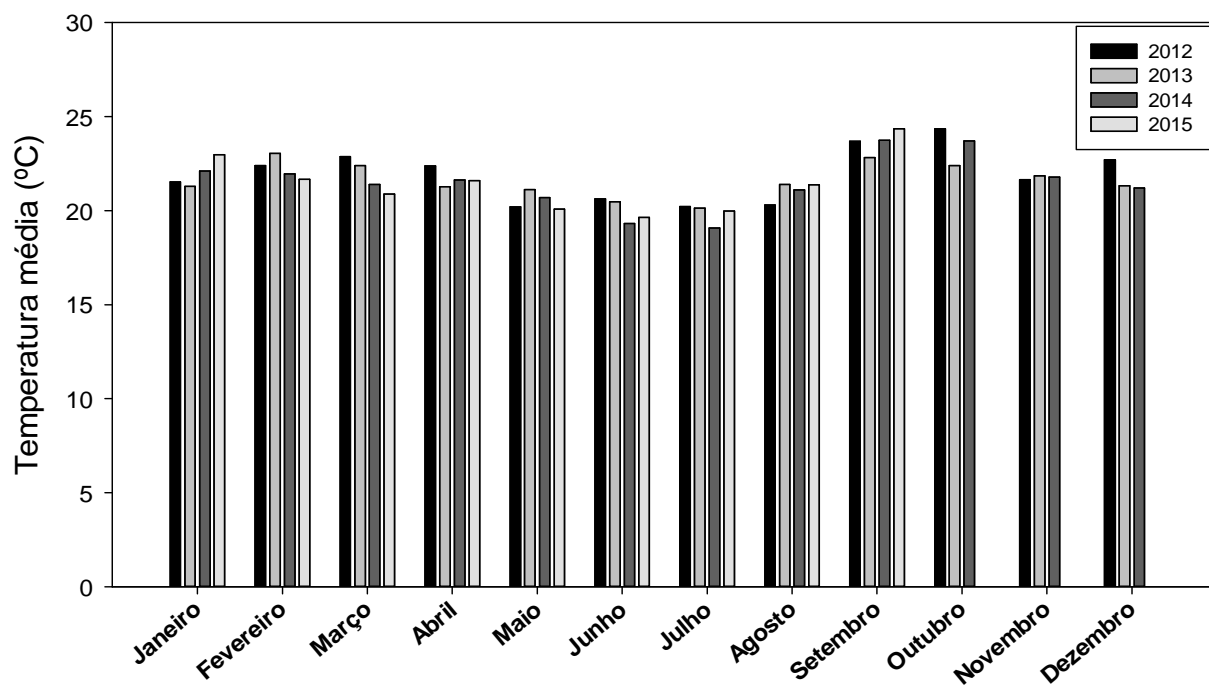


**Figura C.1** - Pluviosidade mensal acumulada observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).

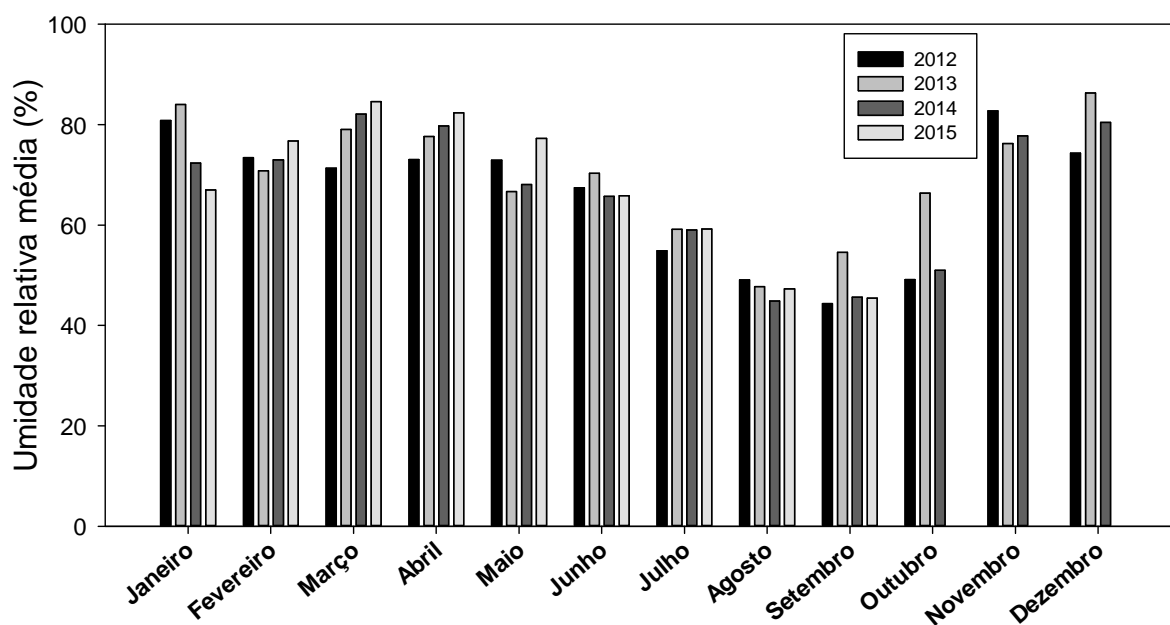


**Figura C.2** - Radiação mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).





**Figura C.3** - Temperatura mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).



**Figura C.4** - Umidade relativa mensal média observada de 2012 a 2015 (dados de 2015 aferidos até o mês de setembro).